



UNIVERSIDAD DE MURCIA
ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**Biomarcadores Predictores de Preeclampsia y
Efectividad del Tratamiento con Aspirina en
Gestantes de Alto Riego**

D^a Maria Elena Lozoya Angulo

2019

UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Departamento de Ginecología y Obstetricia



TESIS DOCTORAL

**Biomarcadores predictores de preeclampsia y efectividad
del tratamiento con aspirina en gestantes de alto riesgo**

Memoria para optar al grado de doctor presentada por

Maria Elena Lozoya Angulo

Bajo la dirección de los Doctores:

D^ª. Catalina de Paco Matallana

D. Francisco Cañizares Hernández

*A mis padres,
por trasmitirme la importancia
de la constancia en el trabajo.*

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis doctoral es un reto académico y personal fraguado durante mi periodo de formación como especialista en Análisis Clínicos. Son muchas las personas que, de un modo u otro, han contribuido a hacer posible este trabajo de investigación y a las que debo mi agradecimiento.

Primero de todo a mis dos directores de tesis por su ayuda incondicional. Gracias a la Dra. Catalina de Paco Matallana por confiar en mí desde el principio y por tu disponibilidad en todo momento. Sin tus correcciones y experiencia no hubiese sido posible la elaboración de esta tesis. Al Dr. Francisco Cañizares Hernandez, por tu ayuda, dedicación y asesoramiento. Gracias por darme todas las facilidades para el desarrollo de la misma.

A la Unidad de Medicina Materno Fetal del Hospital Virgen de la Arrixaca por su colaboración en este proyecto.

Mi reconocimiento a todas esas mujeres, que de forma altruista y desinteresada, han participado en este estudio.

A todos los integrantes del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Virgen de la Arrixaca, he aprendido mucho de vosotros a nivel tanto personal como profesional.

A mis compañeros y amigos residentes, por cuatro años llenos de grandes momentos, dentro y fuera del hospital, que no olvidaré.

A todos mis amigos y familiares, que de manera indirecta me habeis animado a seguir adelante; por todo lo que hemos compartido juntos y lo que nos queda por compartir.

A mis padres, por ser mi apoyo constante y los guías de mi vida. Gracias por vuestra comprensión y confianza en cada una de mis decisiones. Por vuestra actitud en todo momento, siempre optimista. A mis hermanas, por vuestra protección y cariño. Gracias por hacer mi infancia la más feliz, en la que fuisteis mi ejemplo a seguir.

Sin mi marido Nacho esto no hubiera sido posible. Porque haces fácil lo difícil y posible lo imposible. Gracias por haber elegido compartir la vida conmigo y hacerme más feliz cada día.

Y por último, pero los más importantes, a las alegrías de mi vida, mis niños Victoria y Nachete. “Gestamos” juntos esta tesis y, sin duda, me trasmitistéis toda la energía que necesitaba para terminala.

A todos, gracias.

LISTADO DE ABREVIATURAS

1T	primer trimestre
2T	segundo trimestre
3T	tercer trimestre
AACC	análisis cénicos
AAS	ácido acetil salicílico
ABC	área bajo la curva
ACOG	american college of obstetricians and gynecologists
ADN	ácido desoxirribonucleico
ALP	fosfatasa alcalina
ALT	alanina aminotransferasa
AP	atención prenatal
AST	aspartato aminotransferasa
AST	aspartato aminotransferasa
ATL	aspirine triggered lipoxin
AU	ácido úrico
AUC	área bajo la curva (area under the curve)
BT	bilirrubina total
CAT	catalasa
c-HDL	colesterol hdl
CID	coagulación intravascular diseminada
CIR	crecimiento intrauterino restringido
Cis C	cistatina c
CKD-EPI	chronic kidney disease epidemiology collaboration
c-LDL	colesterol ldl
DAUt	doppler de las arterias uterinas
DBA	dosis bajas de aspirina
DPP	desprendimiento prematuro de placenta
E	especificidad
ECLIA	electroquimioluminiscencia
ECV	enfermedad cardiovascular
EDTA	ácido etilendiaminotetracético
EHE	estados hipertensivos del embarazo
eNOS	óxido nítrico sintetasa endotelial
EO	estrés oxidativo
FA	fosfatasa alcalina
FIV	fecundación in vitro
Flt-1	receptor de la tirosín kinasa 1
FP	falsos positivos
FR	factor de riesgo
GGT	gamma glutamil transferasa
GR	glutation reductasa
HELLP	hemólisis, enzimas hepáticas elevadas, plaquetas bajas.
HIF-α	factor de transcripción inducido por la hipoxia

HO-1	hemoxigenasa 1
Hcy	homocisteína
HTA	hipertensión arterial
HTAC	hipertensión arterial crónica
IC	intervalo de confianza
IC95%	intervalo de confianza del 95%
ICSI	inyección intracitoplasmática de espermatozoides
IMC	índice de masa corporal
iNOS	óxido nítrico sintetasa inducible
INR	ratio internacional normalizada
IP AUt	índice de pusatilidad de las arterias uterinas
IP	índice de pulsatilidad medio
IR	índice de resistencia medio
ISSHP	international society for the study of hypertension in pregnancy
LCN	longitud céfalo-caudal
LDH	lactato deshidrogenasa
LDL	lipoproteínas de baja densidad
Lp(a)	lipoproteína (a)
LR	razón de verosimilitud (likelihood ratio)
Mg	magnesio
MoM	múltiplo de la mediana
NHS	national heath service
NICE	national institute of health and care excellence
NK	natural killer
NO	óxido nítrico
O 2-	aión superóxido
OMS	organización mundial de la salud
OR	odds ratio
p95%	percentil 95
PA	presión arterial
PAD	presión arterial diastólica.
PAM	presión arterial media
PAPP-A	proteína plasmática a asociada al embarazo
PAS	presión arterial sistólica
PE	preeclampsia
PFE	peso fetal estimado
PIAM	programa integral de atención a la mujer
PIERS	preeclampsia integrated estimated of risk
PIGF	factor de crecimiento placentario
POX	peroxidasa
PR	predicción de riesgo
RIC, RIQ	rango intercuartílico
RMM	razón de mortalidad materna
ROC	curvas de rendimiento diagnóstico
ROS	especies reactivas de oxígeno
S	sensibilidad

SEF	sociedad española de fertilidad
SEGO	sociedad española de ginecología y obstetricia
sEng	endogлина soluble
sEng	endoglelina soluble
sFit-1	forma soluble de la tirosín kinasa 1
SOD	superóxido dismutasa
SOGC	the society of obstetricians and gynaecologists of canada
TA	tensión arterial
TD	tasa de detección
TFP	tasa de falsos positivos
TG	triglicéridos
TGF-β	factor de crecimiento transformante β
THE	trastornos hipertensos del embarazo
TNFα	factor de necrosis tumoral alfa
TRA	técnicas de reproducción asistida
Treg	linfocitos t reguladores
UCIN	unidad de cuidados intensivos neonatales
VCM	volumen corpuscular medio.
VEGF	factor de crecimiento endotelial vascular
VPN	valor predictivo negativo
VPP	valor predictivo positivo
XO	xantin oxidasa
βhCG	subunidad β de la gonadotropina coriónica humana

1. INTRODUCCIÓN	17
1.1. LA PREECLAMPSIA	18
1.1.1. Reseña Histórica	18
1.1.2. Transcendencia	19
1.1.3. Definición	19
1.1.4. Epidemiología.....	21
1.2. FORMAS CLÍNICAS DE LA PREECLAMPSIA	22
1.2.1. Preeclampsia leve y severa.....	22
1.2.2. Preeclampsia precoz y tardía.....	24
1.2.3. Síndrome de HELLP	26
1.3. FACTORES DE RIESGO.....	26
1.4. FISIOPATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA.....	27
1.4.1. La enfermedad con etiología desconocida.....	27
1.4.2. Placentación anormal. El rol de la placenta	28
1.4.3. Maladaptación Inmunológica.....	28
1.4.4. Inflamación.....	29
1.4.5. Estrés oxidativo	30
1.4.6. Disfunción endotelial	31
1.4.7. Estatus antiangiogénico	32
1.4.8. Genética de la preeclampsia	33
1.4.9. El modelo unificado: “el modelo de dos etapas”	34
1.5. CUADRO CLÍNICO	35
1.6. MORBILIDAD Y MORTALIDAD MATERNO-FETAL.....	37
1.7. DIAGNÓSTICO DE PREECLAMPSIA.....	37
1.8. MANEJO CLÍNICO.....	39
1.8.1. Predicción de la preeclampsia.....	39
1.8.2. Prevención.....	42
1.9. MARCADORES PREDICTIVOS DE PREECLAMPSIA	46
1.9.1. Doppler de la arteria uterina.....	46
1.9.2. Presión arterial media	47
1.9.3. Biomarcadores	47
• Pruebas de función hepática: Bilirrubina, ALT, AST, FA, LDH	47
• Marcadores de Inflamación	49
• Función renal y preeclampsia	51
• Marcadores de dislipemia	54
• Marcadores de estrés oxidativo	58
• Factores angiogénicos	61
• Minerales.....	65

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	69
2.1. JUSTIFICACIÓN E HIPOTESIS	69
2.2. OBJETIVOS	70
3. MATERIAL Y MÉTODOS	75
3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO	75
3.2. PACIENTES	75
3.2.1. Selección de la población de estudio	75
3.2.2. Intervención	77
3.2.3. Seguimiento y recogida de información.....	78
3.2.4. Grupos de estudio	81
3.3. MÉTODOS	81
3.3.1. Parámetros de estudio	81
• Variables clínicas.....	81
• Definiciones clínicas.....	83
• Parámetros de laboratorio	84
3.3.1. Recogida y procesamiento de muestras	85
3.3.2. Análisis estadístico	90
3.3.3. Consideraciones éticas	93
4. RESULTADOS	97
4.1. OBJETIVO 1	97
4.1.1. Características generales de la población de riesgo	97
• Características de los diferentes grupos de estudio	99
4.2. OBJETIVO 2.	109
4.2.1. Análisis de los biomarcadores en el primer trimestre de gestación	109
4.2.2. Análisis de los biomarcadores en el segundo trimestre de gestación	118
4.2.3. Análisis de los biomarcadores en el tercer trimestre de gestación	126
4.2.4. Evaluar la influencia de las características clínicas y demográficas de los pacientes sobre los marcadores propuestos como predictores de PE.....	132
4.3. OBJETIVO 3	133
4.3.1. Modelo predictivo del primer trimestre	133
4.3.2. Modelo predictivo del segundo trimestre	137
4.3.3. Modelo predictivo del tercer trimestre	139
4.4. OBJETIVO 4.	142
4.4.1. Análisis de la expresión de biomarcadores en el grupo tratado con aspirina vs placebo	142
5. DISCUSIÓN	149
5.1. Características de la población global de estudio.....	149
5.2. Biomarcadores en el primer trimestre de gestación	154
• hCG y PAPP-A.....	154

• Pruebas de función hepática	155
• Marcadores de inflamación	157
• Marcadores de dislipemia	158
• Marcadores de estrés oxidativo	161
• Marcadores de función endocrina.....	162
• Análisis de correlaciones en el primer trimestre	163
5.3. Biomarcadores en el segundo trimestre de gestación	167
• Hemograma	167
• Marcadores de función renal	168
• Marcadores de función hepática.....	168
• Marcadores de inflamación	169
• Marcadores de angiogénesis	169
• Análisis de correlaciones en el segundo trimestre	170
5.4. Biomarcadores en el tercer trimestre de gestación	170
• Hemograma	171
• Marcadores de función hepática.....	171
• Marcadores de angiogénesis	172
• Marcadores de dislipemia	173
• Marcadores de función renal	173
• Análisis de correlaciones en el tercer trimestre	175
5.5. Evaluación de la influencia de las características clínicas y demográficas de los pacientes sobre los marcadores propuestos como predictores de PE.	175
5.6. Modelos de predicción de riesgo de PE.....	178
• Modelo predictivo de preeclampsia en el primer trimestre	179
• Modelo predictivo de preeclampsia en el segundo trimestre.....	182
• Modelo predictivo de preeclampsia en el tercer trimestre trimestre	183
5.7. Eficacia del tratamiento con AAS para la prevención de la de PE en gestantes de alto riesgo.	185
• Análisis de la expresión de biomarcadores en el grupo tratado con aspirina vs placebo ..	187
6. CONCLUSIONES.....	1913
7. BIBLIOGRAFÍA.....	1917

ANEXOS

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA PREECLAMPSIA

La preeclampsia es un trastorno hipertensivo específico de la gestación, cuya importancia radica en que es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna y perinatal en el mundo. Es importante seguir investigando en este campo, estudiando las diferencias entre embarazos normales y aquellos complicados por esta patología, con el fin de encontrar un posible modelo predictivo de preeclampsia que haga factible una intervención y vigilancia más estrecha en mujeres de riesgo, intentando reducir las consecuencias negativas de esta enfermedad.

1.1.1. *Reseña Histórica*

El nombre de preeclampsia (PE) deriva de la palabra griega “eklampsis”, que significa relámpago, lo que es reflejo de la aparición repentina de convulsiones en mujeres embarazadas.

Las primeras referencias encontradas, en textos médicos egipcios y chinos, datan de hace unos cuatro mil años, aunque fue Hipócrates, en el siglo V a.C., el que describió el cuadro clínico por primera vez (1). Sin embargo, no fue hasta 1840 cuando se relacionó a esta patología con la albuminuria y, aproximadamente 50 años más tarde, se la vinculó con la presencia de hipertensión (2). A principios del siglo XX, la diferenciación entre la glomerulonefritis (conocida como enfermedad de Bright) y la preeclampsia en mujeres embarazadas era un desafío, ya que ambas condiciones se asocian con estos hallazgos (hipertensión y proteinuria).

La prevención de la eclampsia se propuso como objetivo principal de la atención prenatal en 1901, lo que condujo al énfasis actual en la detección de la preeclampsia en etapas precoces (3). Gracias a ello, en los países desarrollados, la mujer embarazada tiene garantizado un seguimiento continuo de su presión arterial (PA) y exámenes frecuentes de orina que evalúan el nivel de proteinuria de la embarazada.

A principios del siglo XX en España, el 50% de la razón de mortalidad materna (RMM) era por causas obstétricas directas como la preeclampsia y eclampsia, siendo la mayoría de las muertes, tanto maternas como neonatales, debidas a la falta de recursos y a la falta de acceso a la atención sanitaria (4). En la actualidad la RMM en países desarrollados es baja, con un

índice de mortalidad de 16 de cada 100.000 nacidos vivos, pero el impacto de la muerte materna es importante por la repercusión social que conlleva (5).

1.1.2. Transcendencia

En todo el mundo, 536.000 mujeres mueren cada año, 800 cada día y una cada minuto como consecuencia del embarazo y el parto (6). Aproximadamente, el 99% de la mortalidad materna ocurre en entornos de bajos recursos y en las comunidades más pobres (7), siendo el 80% de estas muertes maternas causadas por sepsis, hemorragia, complicaciones de abortos y trastornos hipertensivos del embarazo, como la preeclampsia (8).

La preeclampsia es el más complicado entre estos trastornos, y resulta enigmática debido a la afectación multisistémica y a la fisiopatología multifactorial que la caracteriza. Normalmente se diagnostica ante un cuadro de hipertensión y proteinuria notable después de la 20ª semana de gestación, pero su etiología aún resulta una incógnita. Se la ha relacionado con disfunción endotelial materna, alteración del flujo sanguíneo útero-placentario y con un aumento de la respuesta inmunitaria, la inflamación y el estrés oxidativo (9-10). El proceso de la angiogénesis y el estrés oxidativo (EO) son esenciales en el embarazo normal, pero cuando están fuera del rango normal pueden arriesgar el desarrollo adecuado de la placenta. Se ha demostrado que la producción de factores antiangiogénicos está regulada positivamente los casos de PE (11-12), con un aumento de la forma soluble de la tirosin-quinasa 1 (sFlt-1), un notable factor antiangiogénico, y una disminución de los niveles de factor de crecimiento placentario (PlGF) (13). Este desequilibrio entre los factores proangiogénicos y antiangiogénicos es una causa de la disfunción endotelial materna que conlleva un estado de isquemia placentaria que provoca mayor inflamación y estrés oxidativo. Aunque la generación de radicales libres es un proceso fisiológico normal en el embarazo, el aumento de la producción de éstos tiene efectos adversos sobre el ADN, lípidos y proteínas en la gestante (14).

1.1.3. Definición

Los estados hipertensivos del embarazo (EHE) son un grupo de patologías bastante frecuentes durante la gestación que, junto con la hemorragia y la infección, forman parte de la tríada letal más temida de la mujer gestante, que dan lugar a una importante morbilidad y mortalidad materna e infantil en todo el mundo (15).

La preeclampsia es un estado hipertensivo específico del embarazo de carácter multisistémico y progresivo, que típicamente se presenta con hipertensión posterior a las 20 semanas de gestación, acompañada de proteinuria y/o afectación de otros órganos. Es una de las principales causas de mortalidad materna, fetal y neonatal, especialmente en los países con ingresos bajos y medios (16).

Actualmente para su diagnóstico debe darse hipertensión y la coexistencia de proteinuria y/o disfunción de órganos y/o crecimiento fetal restringido (17).

Tabla 1. Definición de preeclampsia

Nuevos criterios de preeclampsia revisados por la ISSHP (2014)
Hipertensión de nueva aparición posterior a la semana 20 de gestación y la coexistencia de uno o más de las siguientes condiciones de inicio:
1. Proteinuria
2. Otra disfunción orgánica de la madre:
- Insuficiencia renal (creatinina >1.02mg/dL)
- Compromiso hepático (transaminasas elevadas y/o dolor severo en el cuadrante superior derecho o dolor epigástrico)
- Complicaciones neurológicas (por ejemplo: eclampsia, estado mental alterado, ceguera, apoplejía o, con mayor frecuencia, hiperreflexia cuando se acompaña de clonus, dolores de cabeza intensos, escotomas visuales persistentes)
- Complicaciones hematológicas (trombocitopenia, coagulación intravascular diseminada, hemólisis)
3. Disfunción uteroplacentaria
- Crecimiento fetal restringido.

La preeclampsia puede aparecer en mujeres normotensas antes de la semana 20 de gestación o en gestantes con HTA previa. Las mujeres con HTA crónica son una población de riesgo en cuanto al desarrollo de complicaciones durante el embarazo y, en concreto, presentan un riesgo elevado de desarrollar preeclampsia con una frecuencia de aparición de entre 5,2 y 25% en hipertensión leve y de entre un 52 a un 100% en la hipertensión severa (18).

El diagnóstico es difícil y se deberá sospechar ante la aparición de estos signos o síntomas:

- mujeres con hipertensión en la gestación temprana que desarrollan proteinuria después de 20 semanas de gestación.
- mujeres con proteinuria antes de las 20 semanas de gestación que:

- 1) experimentan una exacerbación repentina de la hipertensión, o la necesidad de aumentar la dosis de fármaco antihipertensivo, especialmente cuando previamente estaban bien controladas con estos medicamentos;
- 2) de repente manifiestan otros signos y síntomas, como un aumento de las enzimas hepáticas fuera de rango normal;
- 3) presentan una disminución en sus niveles de plaquetas, por debajo de 100.000/uL;
- 4) presentan síntomas manifiestos como dolor en el cuadrante superior derecho y dolores de cabeza severos;
- 5) desarrollan congestión o edema pulmonar;
- 6) desarrollan insuficiencia renal (los niveles de creatinina se duplican o aumentan hasta 1,1 mg / dL en mujeres sin enfermedad renal). En gestantes con enfermedad renal crónica, el diagnóstico se realiza ante un incremento brusco de la tensión arterial y de la proteinuria.
- 7) tienen aumentos repentinos, sustanciales y sostenidos en la excreción de proteínas.

Eclampsia

El término preeclampsia fue introducido para describir el estado previo a la eclampsia (19). La afectación neurológica en forma de convulsiones tónico-clónicas generalizadas en mujeres con preeclampsia se denomina eclampsia si las convulsiones no pueden atribuirse a ninguna otra causa (como epilepsia, infección cerebral, tumor o rotura de aneurisma), y se encuentra entre las manifestaciones más graves de la enfermedad (20). A menudo es precedido por eventos premonitorios, como dolores de cabeza severos e hiperreflexia, pero puede ocurrir en ausencia de éstos.

1.1.4. Epidemiología

A nivel mundial, la incidencia de preeclampsia oscila entre 2-10% de los embarazos aunque las cifras varían en todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la incidencia de preeclampsia es siete veces mayor en los países en desarrollo que en los desarrollados.

En Norteamérica y Europa la incidencia de eclampsia es similar y se estima alrededor de 5 a 7 casos por cada 10.000 partos, mientras que en países en vías de desarrollo es variable, oscilando entre 1 caso por cada 100 embarazos, a 1 caso por cada 1.700 embarazos. Las tasas de los países africanos como Sudáfrica, Egipto, Tanzania y Etiopía varían de 1,8% a 7,1% y en

Nigeria, la prevalencia oscila entre 2% a 16,7%. Esta mayor incidencia de preeclampsia y eclampsia en países en vías de desarrollo se debe probablemente a la dificultad del acceso al sistema sanitario y la menor calidad y disponibilidad de recursos, que pueden elevar el número y la gravedad de complicaciones derivadas de esta enfermedad (4).

El mayor estudio realizado en España hasta la fecha, de *Comino y cols.*, situó la incidencia de PE en torno al 1,4% (21), resultado similar al obtenido en 2009 por *Cortés y cols.* (22) en un estudio desarrollado en el Hospital de Valladolid realizado sobre 2.546 gestantes. Pero la falta de estandarización en cuanto a su diagnóstico y las diferencias entre las poblaciones estudiadas dificultan una estimación más exacta.

En Estados Unidos, se ha observado un incremento de los casos de PE en los últimos años, de un 2,5% en 1987 a un 3,2% en 2004 (23). Este aumento puede estar influenciado por una variedad de factores, incluido un efecto de período, debido a factores tales como cambios en los criterios diagnósticos o a que la identificación es más temprana en la actualidad. Pero también la obesidad podría ser una causa de dicho incremento ya que, dado que esta condición es uno de los factores de riesgo más importantes para la preeclampsia (24), se espera una mayor tasa de esta enfermedad en poblaciones con proporciones más altas de mujeres obesas como es el caso de EEUU.

En cuanto a la mortalidad, el 15% de las muertes maternas relacionadas con el embarazo se atribuyen a la aparición de PE, porcentaje que se eleva hasta el 25% en los países hispanoamericanos (25).

1.2. FORMAS CLÍNICAS DE LA PREECLAMPSIA

1.2.1. Preeclampsia leve y severa

El espectro clínico de la PE es muy amplio. Existen formas leves que suelen presentarse a término y cursan sin repercusión en el pronóstico materno-fetal (26). Algunos hallazgos clínicos aumentan el riesgo de morbilidad en la preeclampsia y, cuando están presentes, hablamos de preeclampsia severa (27). Los criterios de severidad son similares entre diferentes documentos de consenso como el de la Sociedad Canadiense y el Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (20,28), habiendo sido adoptados estos criterios por muchos médicos e investigadores.

Criterios ACOG 2013 de las formas severas de Preeclampsia.

Alguno de los siguientes hallazgos:

- PA sistólica \geq 160 mm Hg o PA diastólica \geq 110 mm Hg en dos ocasiones con al menos 4 horas de separación mientras el paciente está en reposo en cama (a menos que el tratamiento antihipertensivo se inicie antes de este tiempo)
- Trombocitopenia: recuento de plaquetas $<$ 100.000 / μ L.
- Alteración de la función hepática: concentraciones sanguíneas anormalmente elevadas de enzimas hepáticas (superior a dos veces los valores normales), dolor persistente en el cuadrante superior derecho o dolor epigástrico que no responde a la medicación y no se explica por otro diagnóstico o ambos.
- Insuficiencia renal progresiva: concentración de creatinina sérica superior a 1,1 mg / dL o duplicación de la concentración sérica de creatinina en ausencia de otra enfermedad renal u oliguria.
- Edema pulmonar o cianosis.
- Trastornos cerebrales o visuales de aparición reciente.

Figura 1. Criterios de severidad en la preeclampsia

Estudios recientes indican que existe una mínima relación entre la proteinuria y el resultado del embarazo en la PE, por ello, la proteinuria masiva (mayor de 5 g) se ha eliminado de la consideración de la preeclampsia severa, ya que no es indicación absoluta de parto. También el ACOG ha eliminado el crecimiento fetal restringido de los criterios de severidad ya que el manejo es similar en mujeres con y sin preeclampsia (29).

La preeclampsia severa puede resultar en complicaciones agudas y a largo plazo, tanto para la mujer como para su recién nacido (30-31). Las complicaciones maternas de la preeclampsia grave incluyen, entre otros, edema pulmonar, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, síndrome de dificultad respiratoria aguda, coagulopatía, insuficiencia renal grave y retinopatía. El curso clínico de la preeclampsia severa, se caracteriza a menudo por un deterioro progresivo de las condiciones maternas y fetales si no se realiza el parto (31), por lo que se recomienda éste siempre que la edad gestacional sea igual o mayor de 34 semanas. Además, el parto es la opción más segura para la mujer y su feto cuando hay evidencia de edema pulmonar, insuficiencia renal, desprendimiento de placenta, trombocitopenia grave, coagulación

intravascular diseminada, síntomas cerebrales persistentes, pruebas fetales no tranquilizadoras o muerte fetal, independientemente de edad gestacional (29-31).

La PE se asocia a una placentación anormal, con trombosis placentaria e infartos, que puede llevar a una reducción en el suministro de nutrientes al feto y puede manifestarse clínicamente como reducción del movimiento fetal, reducción del volumen líquido y tamaño fetal por debajo del esperado para la gestación. El empeoramiento de la preeclampsia, en el que se da trombosis progresiva de la placenta y falta de suministro de sangre al feto, puede conducir a una muerte fetal intrauterina como consecuencia de la hipoxia fetal. Otras complicaciones fetales de la preeclampsia incluyen el parto prematuro y las complicaciones que ello conlleva, lesiones hipóxico-neurológicas, bajo peso al nacer y muerte perinatal (27).

1.2.2. Preeclampsia precoz y tardía

Pero la clasificación según la severidad puede ser perjudicial y arriesgada, ya que la preeclampsia leve puede progresar rápidamente a una preeclampsia grave. Por ello a día de hoy la clasificación más utilizada por los médicos e investigadores es la que clasifica la preeclampsia en temprana o tardía según el momento de aparición, con un punto de corte establecido en 34 semanas (32).

Por lo tanto encontramos dos fenotipos, PE de inicio temprano, cuando la PE aparece antes de la semana 34 de gestación y PE de inicio tardío, cuando debuta a las 34 semanas de gestación o de forma posterior. El ISSHP ha marcado el punto de corte en 34 semanas, pero las definiciones varían y la línea divisoria entre la PE de inicio temprano y tardío varía entre los diferentes estudios (17). El umbral se encuentra desde la semana 28 a la semana 37 de gestación, lo cual constituye un problema a la hora de comparar resultados de diferentes investigaciones.

La gran mayoría de los diagnósticos corresponden a formas tardías y, aproximadamente, el 10% pertenecen a formas precoces (33-35). La preeclampsia de inicio precoz tiende a ser más severa para la madre y el feto que la preeclampsia de inicio tardío, debido quizás a diferencias etiológicas entre estas dos entidades (35). Toda la investigación realizada sobre esta enfermedad, sobre todo en los últimos años, ha podido aclarar algunos aspectos de su fisiopatología que han puesto en evidencia que el origen etiopatogénico y su expresividad clínica son diferentes en la PE precoz y tardía, lo que justifica la diferenciación entre estos dos grupos (36). Entre otras diferencias, se ha demostrado que en la PE de inicio precoz, se

encuentran signos más claros de hipoxia placentaria, se desarrollan placentas más pequeñas y hay más riesgo de CIR que en la PE tardía. Además se ha evidenciado que se da un remodelado inadecuado e incompleto de las arterias espirales, que puede ser visualizado mediante alteraciones en el Doppler de la arteria uterina que no ocurre en la PE tardía (37).

La PE que debuta a término, presenta una morbilidad y mortalidad semejante a una gestación normal, excepto en el 1-2% de casos en que se asocia al síndrome de HELLP (38). La PE que debuta antes de las 34 semanas, asocia una mortalidad materna unas 20 veces mayor que la PE a término (39), mientras que la que se establece entre las semanas 34 y 37 se comporta de una forma menos predecible, pudiendo encontrar en este intervalo casos complejos y otros con un curso mucho más benigno. En la tabla 2 se muestran las principales diferencias entre las dos formas clínicas (40).

Más raramente, la preeclampsia puede desarrollarse en el período posparto. Dado que en la actualidad el alta hospitalaria temprana es la práctica habitual en España, se debe instruir a la mujer en el alta del hospital para que sean conscientes de los principales síntomas de alarma (dolor de cabeza severo, trastornos visuales o dolor epigástrico).

Tabla 2. Diferencias entre la preeclampsia de inicio precoz y de inicio tardío

	PE de inicio precoz	PE de inicio tardío
Prevalencia	5-20%	75-90%
Factores de riesgo	<ul style="list-style-type: none"> - PE en gestación previa - Primípara - Raza negra - HTA crónica 	<ul style="list-style-type: none"> - Historia familiar de PE - Edad materna <20 o >40 años. - Multiparidad - Obesidad - Diabetes pregestacional - Tabaquismo
Inicio del síndrome materno	Antes de las 34 semanas	Después de las 34 semanas
Severidad	Más severo: HELLP, eclampsia	Menos severo
Crecimiento fetal	Mayor asociación a CIR	Fetos adecuados o grandes para la edad gestacional.
Signos de hipoxia placentaria	Muy frecuentes	Poco frecuentes
Tamaño placenta	Pequeña	Adecuada o grande
Doppler AUt en 1º y 2º trimestre	Alterado (IP > percentil 95)	Habitualmente normal
Balance angiogénico	<ul style="list-style-type: none"> - sFLT-1 muy elevado - PIGF disminuido - Ratio sFLT-1/PIGF muy elevado 	<ul style="list-style-type: none"> - sFLT-1 ligeramente elevado - PIGF ligeramente disminuido - Ratio sFLT-1/PIGF ligeramente elevado

Sorprendentemente, ni la ACOG ni casi ningún sistema de clasificación, incluyen el debut temprano en sus criterios de severidad. La única sociedad que sí incluye la PE que debuta antes

de las 34 semanas de gestación como marcador de PE severa, es la Sociedad Canadiense de Ginecología y obstetricia (SOGC) (41).

La realidad es que en la práctica clínica es complicado determinar el momento concreto en el que debuta la PE, ya que para ello sería necesario obtener datos sobre la tensión arterial y la proteinuria de forma mucho más frecuente.

1.2.3. Síndrome de HELLP

Hay un subtipo de preeclampsia que genera cierta confusión, es el llamado síndrome de HELLP. Éste síndrome se caracteriza por la combinación de hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y trombocitopenia. Es un tipo severo dentro del espectro clínico de este trastorno, pero no es una enfermedad aislada y diferente de la preeclampsia. El ISSHP (17) recomienda que las mujeres con síndrome HELLP, sean consideradas como mujeres con preeclampsia para reducir la confusión que pueda haber al respecto, y para garantizar un tratamiento rápido y adecuado.

1.3. FACTORES DE RIESGO

La PE es una enfermedad sistémica de origen placentario, por ello las situaciones médicas que condicionen una predisposición a la disfunción vascular, tales como hipertensión crónica, diabetes mellitus, obesidad, lupus eritematoso sistémico o trombofilias se relacionan con la PE. La identificación de dichos factores al comienzo del embarazo, es un paso fundamental para establecer el tipo de control que se debe llevar a cabo con cada gestante, y así orientar los recursos a esas pacientes y no a las de bajo riesgo (42-43). Los factores de riesgo para desarrollar preeclampsia que se han identificado se muestran en la Figura 2.

FACTORES DE RIESGO DE PREECLAMPSIA

- Nuliparidad
- Intervalo mayor de 5 años desde anterior embarazo
- Corta duración de la relación sexual antes del embarazo (<6 meses)
- Edad: >40 o <20 años.
- Obesidad: IMC > de 30 kg / m².
- Genética: Historia familiar de preeclampsia e historia personal de preeclampsia
- Etnia: raza negra.
- Tratamiento de fertilidad
- Gestación múltiple
- Enfermedades crónicas: diabetes, HTA, obesidad, dislipemia, enfermedad renal, trombofilias...
- Enfermedades autoinmunes: Síndrome antifosfolípido, Lupus eritematoso sistémico.

Figura 2. Factores de riesgo de preeclampsia

Hasta el 10-20% de las embarazadas puede reunir algún criterio de riesgo, pero la mayoría de ellas no llega a desarrollar PE por lo que este método de cribado resulta poco eficiente.

1.4. FISIOPATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

1.4.1. *La enfermedad con etiología desconocida*

Los múltiples factores de riesgo reflejan la naturaleza multifactorial de la preeclampsia y, a día de hoy, a pesar de muchos intentos por entender los orígenes de la PE, éstos siguen siendo en gran medida desconocidos.

Se piensa que la etiología de la preeclampsia se asocia principalmente con una mala placentación, debida en parte a un maladaptación inmunológica que conlleva una inflamación materna excesiva, y aumento del estrés oxidativo, con la consiguiente disfunción endotelial generalizada que esto produce.

1.4.2. Placentación anormal. El rol de la placenta

La placenta juega un papel central en la patogénesis de preeclampsia y la importancia en su desarrollo está extensamente documentado (44). A pesar de lo mucho que se ha investigado en este campo, el mecanismo exacto responsable de la alteración de la función placentaria por el momento se desconoce (45).

Los estudios establecen un vínculo directo con la placenta más que con el feto, ya que la enfermedad parece remitir solamente después de la extracción de la placenta y, de hecho, complicaciones como la eclampsia posparto, se han relacionado con fragmentos placentarios retenidos, cuya evolución mejora rápidamente después del curetaje uterino (46).

Está ampliamente aceptado que el proceso fisiopatológico de PE, comienza con una invasión inadecuada de trofoblasto. Durante la placentación normal, las células citotrofoblásticas forman un trofoblasto extravagante (EVT) altamente invasivo, que puede migrar a la decidua e invadir el primer tercio del miometrio, induciendo la remodelación de las arteriolas espirales para producir el sistema vascular de baja resistencia, que permita un aumento de 10 veces en el flujo sanguíneo, algo esencial para el crecimiento fetal (47). La reducción relativa del flujo útero-placentario, secundaria a la placentación anormal causada por una alteración de la invasión de trofoblasto (48), es el desencadenante del desarrollo de la PE (49) ya que lleva a un estado de hipoxia placentaria que desencadena un aumento de la necrosis de la placenta (50). Como consecuencia se liberan fragmentos celulares a la circulación sanguínea, que se traduce en una respuesta inmunológica sistémica y, por consiguiente, un aumento de la inflamación y del estrés oxidativo, que contribuye al desarrollo de disfunción endotelial sistémica en las fases posteriores de la enfermedad (51-52).

Pero los mecanismos que implican esta pobre placentación, siguen siendo áreas de investigación ya que se desconoce el mecanismo exacto.

1.4.3. Maladaptación Inmunológica

Parece que la mala placentación no es probablemente la causa primaria de la preeclampsia y, de hecho, hay una hipótesis sólida basada en la maladaptación inmunológica, que apoya una etiología inmunológica de la preeclampsia (53). De acuerdo con esta hipótesis, la maladaptación del sistema inmune puede provocar la invasión superficial de las arterias espirales por los citotrofoblastos y, como resultado, la disfunción sistémica de las células

endoteliales.

La respuesta inmunológica materna durante el embarazo es esencial para mantener este estado, e implica tolerancia al feto semi-alogénico, que posee la mitad de genes de origen maternos y la otra mitad de origen paterno. Mecanismos fetales, maternos y placentarios protegen al feto contra el sistema inmunológico materno, para que las células fetales no sean rechazadas innatamente a su llegada (54). El tejido fetal que invade el territorio materno se caracteriza por ser poco inmunogénico, gracias a que el trofoblasto apenas expresa las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) o el antígeno leucocitario humano (HLA). Además, las células dentríticas (CD) presentes en la decidua promueven un estado de dominación de Th2 en el útero y la placenta, con el fin de inducir la inmunotolerancia de la madre al feto (55). Juntas, las células inmunes presentes en la decidua trabajan durante el embarazo, para asegurar la implantación adecuada y promover que la invasión del trofoblasto no sea ni demasiado superficial ni excesivamente invasiva (56). El equilibrio en el número de células inmunes presentes y los factores que éstas producen, son cruciales para un embarazo saludable y cualquier desequilibrio en la respuesta inmune local podría resultar en una malformación de la placenta. En contraste con los embarazos normales, los embarazos afectados por PE, se asocian con una respuesta inmune inadecuada y un medio de células inmunitarias activadas alternativamente, que provoca la expresión de citoquinas proinflamatorias (57) que puede conducir a una placentación defectuosa.

En resumen, la inmunorregulación es un mecanismo que puede fracasar parcialmente y causar placentación deficiente o, fallar completamente y provocar el aborto espontáneo.

1.4.4. *Inflamación*

Se ha demostrado que la isquemia placentaria, resultado de la invasión insuficiente de trofoblasto observada en la PE, produce un desequilibrio en la función inmune que conduce a la inflamación crónica (58). Este desequilibrio inmune consiste en un aumento de las células inmunitarias proinflamatorias y la expresión de citoquinas de este tipo, en detrimento de las células y citoquinas reguladoras, creándose un estado crónico e incontrolado de la inflamación (57). Durante la PE se evidencian niveles aumentados de TNF- α e IL-6 en la circulación, mientras que la IL-10 y la IL-4 están disminuidos en las células trofoblásticas (59). A nivel vascular, esta inflamación contribuye a la disfunción endotelial por un aumento de las moléculas de adhesión y la permeabilidad de las células endoteliales (60).

1.4.5. *Estrés oxidativo*

Los estudios translacionales han demostrado que el estrés oxidativo, juega un papel importante en la patogénesis de la preeclampsia.

Durante el embarazo normal, en el proceso de remodelación de las arterias uterinas y los vasos placentarios, se forman radicales libres como óxido nítrico (NO), anión superóxido (O_2^{-2}), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo ($HO\cdot$) y peroxinitrito (ONOO⁻). Estas especies se incrementan durante el embarazo pero se controlan fisiológicamente mediante los antioxidantes, defensas encargadas de neutralizar a estas especies prooxidantes (61).

Durante la PE, se cree que la mala perfusión placentaria causa hipoxia intermitente, que conduce a un estado de estrés oxidativo, donde se aumenta la generación de radicales libres de oxígeno en la placenta (62). Si los niveles incrementados de radicales libres de oxígeno supera la capacidad antioxidante, habrá un daño a nivel de ADN, lípidos y proteínas, provocando daño celular y endotelial. El estrés oxidativo también incrementa la generación de moléculas como citoquinas proinflamatorias y factores antiangiogénicos, resultando todo ello en un importante daño en los endotelios (63).

Está descrito que existe un aumento en diversos marcadores de estrés oxidativo, tales como como superóxido dismutasa, especies reactivas de oxígeno y prostaglandina $F2\alpha$ en embarazos de mujeres con PE (64).

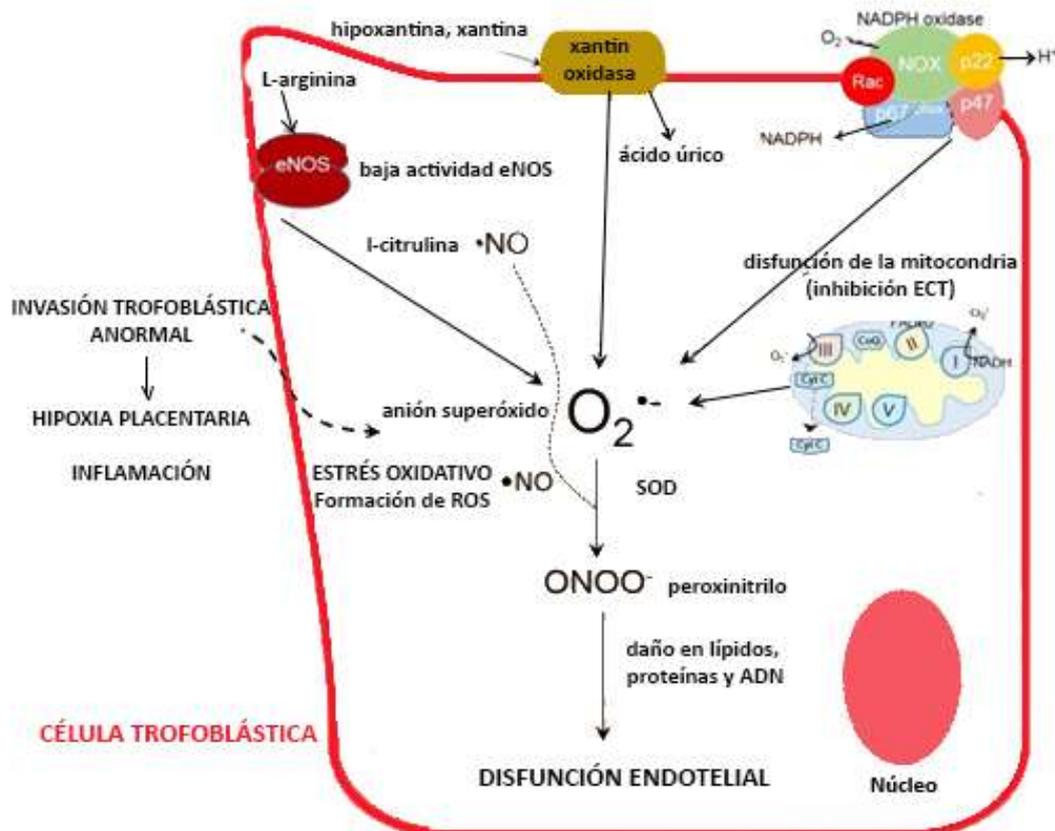


Figura 3. Estrés oxidativo en la Preeclampsia

1.4.6. Disfunción endotelial

La disfunción endotelial es un sello distintivo de la preeclampsia, que puede definirse como el daño en el sistema endotelial vascular materno, representado por un vasoespasmo generalizado, aumento de la permeabilidad capilar y activación plaquetaria (34).

Como se mencionó anteriormente, la anormal invasión trofoblástica de la PE, provoca una remodelación incompleta de las arterias espirales que produce un estado de isquemia/reperfusión placentaria con aumento de la inflamación y estrés oxidativo. Dentro de la célula del trofoblasto, el estrés oxidativo puede derivar en disfunción endotelial de la circulación materna por el daño de lípidos, proteínas y ADN que éste produce (65). En el endotelio dañado se reduce la liberación de agentes vasodilatadores (prostaciclina, óxido nítrico), no es capaz de activarse el sistema renina-angiotensina-aldosterona, y además se desarrolla una hipersensibilidad a la angiotensina II (34), que lleva a una vasoconstricción generalizada y a un aumento de la permeabilidad vascular, que a nivel sistémico se traduce en un incremento de las resistencias vasculares, mayor agregación plaquetaria y activación de la

coagulación, creándose depósitos de fibrina y agregados plaquetarios a nivel endotelial, sistémico y placentario. Esto puede provocar trombos e infartos placentarios, con el consiguiente aumento de estrés oxidativo, inflamación, disfunción endotelial e isquemia, creándose un verdadero círculo vicioso.

Además, dado que los niveles de lípidos circulantes indicativos de dislipemia han mostrado estar implicados en la patogénesis de la disfunción endotelial de la aterosclerosis, se propone que la dislipemia puede ser un candidato plausible en la patogénesis de la disfunción endotelial de la preeclampsia.

1.4.7. *Estatus antiangiogénico*

En la preeclampsia son claves los factores moduladores de la angiogénesis. La formación de la placenta, precisa una importante angiogénesis para asegurar un adecuado suministro sanguíneo, y para ello se sintetizan y liberan factores proangiogénicos, como VEGF-A y PlGF, y factores antiangiogénicos, como sFlt-1 y endoglina soluble, entre los cuales debe haber un equilibrio que asegure el intercambio sanguíneo materno-fetal. Uno de los mecanismos de la disfunción endotelial, consiste en la pérdida del equilibrio entre los factores proangiogénicos y antiangiogénicos, ya que los factores angiogénicos son claves en el proceso de crecimiento de nuevos vasos sanguíneos, y en el mantenimiento general y la salud de las células endoteliales.

Se sabe que los niveles de sFlt-1, forma truncada del receptor de Flt-1, aumentan en PE con respecto a los embarazos sanos, aumento que precede a la manifestación del trastorno. Altos niveles de sFlt-1 bloquean la función de VEGF y PlGF e impiden la unión a su receptor específico del endotelio de superficie, disminuyendo la angiogénesis y, en consecuencia, induciendo la disfunción endotelial ya iniciada tras la invasión trofoblástica defectuosa (66).

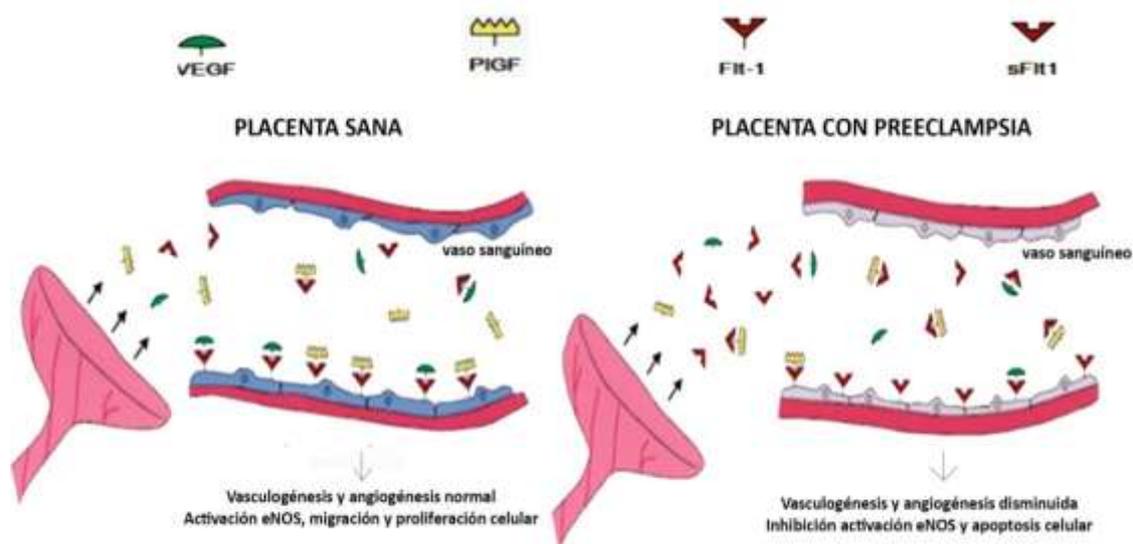


Figura 4. Diferencias en la expresión y acción de marcadores de angiogénesis en placentas sanas vs placentas con preeclampsia

En la Figura 4 se muestra el mecanismo de actuación de Flt-1, sFlt-1, PlGF y VEGF en el desarrollo de preeclampsia. En la placenta de una gestante sana se producen cantidades reguladas de sFlt1, PlGF y VEGF que son liberados al torrente sanguíneo. En embarazos normales PlGF y VEGF se unen al receptor de membrana Flt-1, induciendo la angiogénesis. En placentas de gestantes con PE se produce un exceso de sFlt-1 al que se unen PlGF y VEGF, bloqueando su unión a los receptores de membrana Flt-1 lo cual impide la angiogénesis, lo que desencadena disfunción endotelial.

1.4.8. Genética de la preeclampsia

La naturaleza hereditaria de la preeclampsia, entonces llamada toxemia del embarazo, fue descrita por primera vez por Chesley y cols en 1968 (67). Desde entonces, diversos estudios han intentado demostrar la etiología genética de la preeclampsia con resultados inconsistentes (68).

Se han llevado a cabo numerosos estudios que han localizado locus interesantes pero con resultados en conjunto poco sólidos por la variabilidad de los resultados según el tipo de estudio (68-70).

Al igual que la etiología de la preeclampsia tiene carácter multifactorial, la causa genética puede ser múltiple y es probable que la susceptibilidad se deba a la acción de varios genes que actúan en la madre y en el feto, modificados por factores ambientales.

1.4.9. *El modelo unificado: “el modelo de dos etapas”*

La fisiopatología de la preeclampsia se ha tratado de explicar con un modelo único que combine cada uno de los mecanismos descritos anteriormente (70). El modelo unificado distingue dos fases en la patogénesis de la PE.

La primera fase se da en el primer y segundo trimestre. Durante esta etapa, la predisposición genética e inmunológica junto con el estrés oxidativo generado, provocan la incapacidad de los citotrofblastos para invadir la decidua materna, y para llevar a cabo de forma adecuada el remodelado de las arterias espirales. Como resultado, hay una invasión superficial de la decidua y una remodelación defectuosa que compromete la perfusión maternofetal, generando una situación de isquemia útero placentaria.

La segunda fase se da en el tercer trimestre. Consecuencia de la placentación anómala, se genera un estado inflamatorio y gran estrés oxidativo, que provoca una alteración en el equilibrio entre factores proangiogénicos (disminuyen PIGF y VEGF) y anti-angiogénicos (aumentan sFlt-1 y sEng) producidos por la placenta. Todo ello contribuye al desarrollo de la disfunción endotelial, responsable de las típicas manifestaciones clínicas de la PE, como HTA, proteinuria, fallo hepático, alteraciones neurológicas y alteraciones hematológicas (71).

Simplificar la fisiopatología de la PE según el modelo descrito es arriesgado, ya que como hemos dicho la etiología es multifactorial y los distintos subtipos de PE pueden responder a mecanismos diferentes.

En resumen, la comprensión actual de la patogénesis de la preeclampsia, sostiene que existe una causa iniciadora inmunológica que conduce a disfunción placentaria, que lleva a la desregulación angiogénica que tiene efectos a nivel de múltiples lechos vasculares (58). Por tanto, la maladaptación inmune feto-materna y la genética son probablemente el origen, y la disfunción / activación de las células endoteliales representa la vía común en el síndrome materno (72).

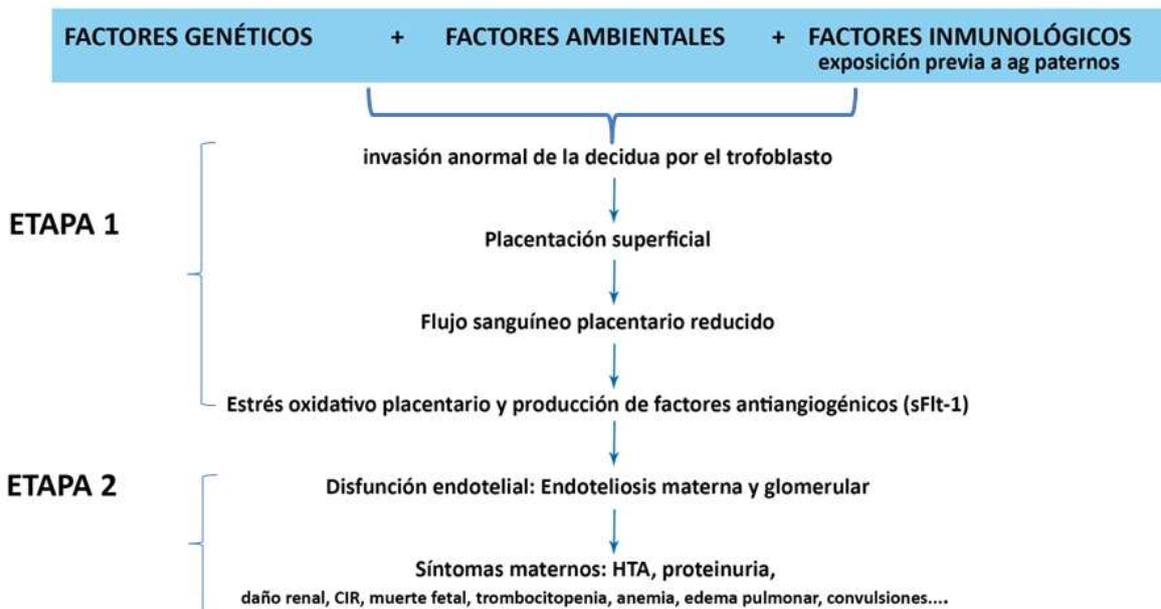


Figura 5. Modelo en dos etapas de la preeclampsia

1.5. CUADRO CLÍNICO

La preeclampsia es un estado hipertensivo específico del embarazo de carácter multisistémico y progresivo, que típicamente se presenta con hipertensión de nueva aparición posterior a las 20 semanas de gestación, acompañada de proteinuria y/o afectación de otros órganos. Muchos son los órganos y sistemas que pueden verse afectados, destacando las alteraciones vasculares, renales, hepáticas, hematológicas, neurológicas y cardiopulmonares.

La HTA es el único requisito imprescindible para su diagnóstico, y es consecuencia de la disfunción endotelial ya que ésta produce vasoconstricción y aumento de la permeabilidad vascular que a nivel sistémico se traduce en un aumento de las resistencias vasculares, incrementándose así la presión arterial.

La respuesta inflamatoria sistémica y el daño endotelial característicos de la PE afectan también a los endotelios glomerulares de los riñones. La endoteliosis glomerular producida puede conducir a una perturbación en la membrana de filtración glomerular y, por tanto, a la proteinuria. Además, estos cambios alteran la permeabilidad de los capilares glomerulares y reducen la superficie de filtración, reduciéndose la tasa de filtración glomerular.

A nivel hepático, los sinusoides también se ven afectados por el daño endotelial y la inflamación y, de hecho, les provoca importantes lesiones. La prevalencia de pruebas anormales de la función hepática en embarazos complicados por PE y eclampsia varía, de 20-30% (73) y su determinación es criterio diagnóstico y de severidad.

Las alteraciones hematológicas relacionadas con la PE, son la trombocitopenia y la anemia microangiopática. El motivo por el cual en la PE se da trombocitopenia es debido a que en la PE se da una activación plaquetaria y de la coagulación, que desencadena la producción de microtrombos que pueden ocluir pequeños vasos. Por otro lado, los glóbulos rojos a su paso por los vasos ocluidos se pueden fragmentar, generando la anemia hemolítica (74).

La afectación neurológica en la PE se manifiesta con dolor de cabeza, alteración de la consciencia y alteraciones visuales, llegando a provocar convulsiones en el caso de la eclampsia. Sigue habiendo muchas preguntas sin respuesta sobre la patogénesis de la afectación neurológica de la preeclampsia, pero la disfunción endotelial juega un rol importante (75) y parece deberse a fallos de los mecanismos autorreguladores cerebrovasculares en respuesta a un aumento agudo y / o relativamente grande de la presión sanguínea.

En cuanto a las manifestaciones cardiovasculares, también son atribuibles a la activación endotelial vascular generalizada y al vasoespasmo, que resulta en hipertensión e hipoperfusión multiorgánica. Las complicaciones cardiovasculares afectan a un 6% de los pacientes con PE severa, y dentro de éstas el hallazgo más frecuente es el edema pulmonar, que se produce como consecuencia del incremento de la permeabilidad capilar (71).

1.6. MORBILIDAD Y MORTALIDAD MATERNO-FETAL

La preeclampsia es uno de los síndromes obstétricos más serios, y constituye la principal causa de mortalidad y morbilidad materna y neonatal en embarazadas, tanto en España como en el resto del mundo. Se ha estimado que un tercio de la morbilidad materna significativa se debe a preeclampsia, y que un 5% de mujeres con preeclampsia requieren ingreso en la unidad de cuidados intensivos (76).

Pero los efectos sobre el feto son también significativos, y por ejemplo los bebés nacidos de madres con esta patología corren mayor riesgo de tener un crecimiento intrauterino restringido, bajo peso al nacer y parto prematuro (77).

Pero además, la endoteliosis materna produce un daño a nivel de los endotelios a largo plazo, que dispara el riesgo en un futuro de sufrir enfermedades relacionadas con éste, tanto para la madre como para el futuro niño (79-80). En los últimos años, estudios observacionales han demostrado consistentemente, que la PE conlleva un mayor riesgo de que la madre desarrolle enfermedades cardiovasculares, renales, retinopatía (32) y aterosclerosis (80).

El reconocimiento de la PE como factor de riesgo de estas patologías, permite identificar una población joven de mujeres con alto riesgo de desarrollar enfermedades, y llevar a cabo medidas oportunas de prevención y tratamiento a tiempo.

1.7. DIAGNÓSTICO DE PREECLAMPSIA

La preeclampsia es un síndrome que puede presentarse de diferentes maneras, lo cual ha complicado muchas veces su diagnóstico exacto y, de hecho, los criterios diagnósticos han ido cambiando a lo largo del tiempo. Históricamente el diagnóstico de preeclampsia quedaba establecido ante una gestante con hipertensión y proteinuria de novo, pero la aparición de proteinuria ya no es un criterio estrictamente necesario. Los criterios diagnósticos para la preeclampsia fueron cambiados por la Sociedad Internacional para el Estudio de la Hipertensión en el Embarazo (ISSHP) en 2014 (17), y actualmente el diagnóstico según esta sociedad se establece ante una mujer con hipertensión de nueva aparición posterior a la semana 20, más la coexistencia de una o más de las siguientes condiciones (17,81): proteinuria, disfunción de órganos, restricción de crecimiento fetal.

La hipertensión en el embarazo, se establece con una presión arterial en reposo mayor o igual a 140 mmHg la sistólica o mayor o igual a 90 mmHg la diastólica, en dos ocasiones con al menos 4 horas de diferencia, después de 20 semanas de gestación en una mujer con presión arterial previamente normal. Ante presiones arteriales mayores o iguales a 160 mmHg, la sistólica o mayores o iguales a 110 mmHg la diastólica, la hipertensión se puede confirmar dentro de un corto intervalo (minutos) para facilitar el tratamiento antihipertensivo oportuno.

Cuando la hipertensión de novo se presenta después 20 semanas de gestación, la siguiente decisión es si esto representa hipertensión gestacional pura o preeclampsia. La segunda se diagnostica ante la coexistencia de una o más de las siguientes condiciones de nueva aparición:

- Proteinuria
- Disfunción de órganos maternos
- Disfunción útero-placentaria

Se define la proteinuria como la presencia de proteínas en la orina (Figura 6).

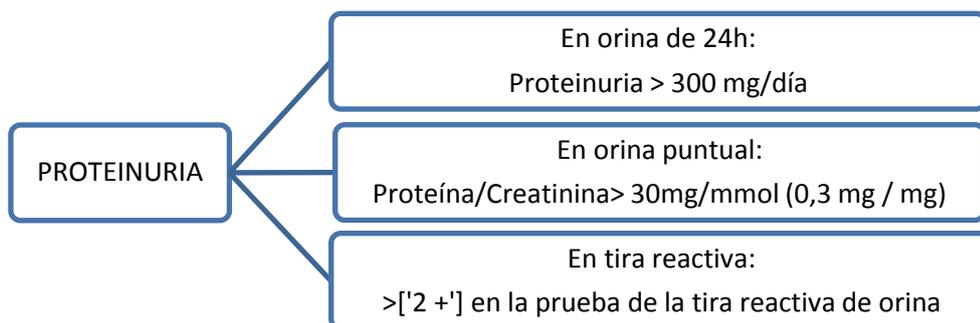


Figura 6. Criterios diagnósticos de proteinuria en Preeclampsia.

La proteinuria ya no es un criterio *sine qua non* de preeclampsia, por lo que la preeclampsia proteinúrica y no proteinúrica son ahora dos categorías separadas (17). En cuanto al grado de proteinuria, es una prueba que proporciona muy poca estratificación de riesgo adicional por lo que no se incluye en consideraciones de la gravedad de la preeclampsia (17).

Ya sea en ausencia o presencia de proteinuria, la hipertensión de nueva aparición junto con alguno de las siguientes alteraciones orgánicas es diagnóstico de preeclampsia:

- Complicaciones hematológicas: Trombocitopenia de nueva aparición (recuento de plaquetas inferior a 150.000 / microlitro), coagulación intravascular diseminada (CID), hemólisis.
- Insuficiencia renal: Concentraciones de creatinina sérica superiores a 1.02 mg/dL (creatinina >90 umol/L).
- Afectación hepática: elevación de transaminasas al menos dos veces por encima del límite superior de la normalidad, y/o presencia de dolor abdominal en el cuadrante superior derecho o dolor epigástrico.
- Complicaciones neurológicas: Como por ejemplo eclampsia, alteración del estado mental, ceguera, accidente cerebrovascular, hiperreflexia, clonus, fuertes dolores de cabeza, escotomas visuales persistentes, hiperreflexia

Sigue habiendo controversia sobre si la restricción del crecimiento fetal en el contexto de la nueva hipertensión gestacional, se considera preeclampsia. En guía de la ISSHO 2014 se establece que en un paciente con HTA de nueva aparición posterior a las 20 semanas, en ausencia de otra característica materna de la preeclampsia, la restricción del crecimiento es un criterio de preeclampsia (17).

1.8. MANEJO CLÍNICO

El manejo actual de la preeclampsia se basa en el diagnóstico, y una vez la enfermedad está establecida, administrar tratamiento sintomático y elegir el momento del parto para minimizar la morbilidad y mortalidad maternofetal.

Los avances sobre la fisiopatología de la enfermedad han mostrado que ya desde el primer trimestre hay cambios subclínicos en la gestante que desarrollará preeclampsia, que aumentan el riesgo de que la embarazada presente esta enfermedad en el tercer trimestre (82). La predicción de la preeclampsia en el primer trimestre resulta de gran interés, ya que la toma de medidas preventivas en fases tempranas podría reducir el riesgo de sufrir esta enfermedad.

1.8.1. Predicción de la preeclampsia

En los países occidentales, la tendencia actual se dirige hacia la detección precoz de enfermedades y, de hecho, durante el embarazo está instaurada la detección precoz de

malformaciones y anomalías cromosómicas, mediante el llamado cribado combinado del primer trimestre. Éste es un buen ejemplo de predicción de enfermedades en el que mediante la combinación de una ecografía y el uso de marcadores bioquímicos, se predice con buena sensibilidad y especificidad los síndromes de Down, Patau y Edwards, prueba que se lleva a cabo de modo asistencial en muchos países, entre ellos, España (83).

Gracias al cambio en el cribado de las aneuploidías desde el segundo al primer trimestre del embarazo, muchos parámetros clínicos, ecográficos y de laboratorio han sido explorados durante etapas tempranas del embarazo como herramientas para predecir quién desarrollará posteriormente preeclampsia (84). Aprovechando los procedimientos de detección en esta etapa del embarazo, en la que a día de hoy se les realiza de forma programada una analítica y una ecografía, puede ser un buen momento para la predicción de la preeclampsia, ya que como prueba de screening, es una condición que se realice en etapas tempranas del curso de la enfermedad, donde los tratamientos y medidas preventivas puedan cambiar el curso natural y disminuyan el riesgo de que se presente la enfermedad (85).

Históricamente, la identificación de la población en riesgo de PE, se ha realizado en base a variables maternas, conocidas desde el inicio de la gestación y que incrementan la probabilidad de desarrollar la enfermedad. La mayoría de los factores de riesgo han demostrado tener capacidad de predicción, pero su rendimiento aislado es pobre.

En cuanto a los marcadores más estudiados, éstos incluyen entre otros (17):

- Estudios de doppler de la arteria uterina.
- Presión arterial.
- Medición de biomarcadores como factores angiogénicos y antiangiogénicos (VEGF, PlGF, sFlt-1 y sEng), ADAM-12, PAPP-A, PP 13, homocisteína, ADMA, ácido úrico, leptina, albúmina, calcio urinarios etc.

Pero la PE se considera un síndrome con varias presentaciones, que por su compleja fisiopatología no hace posible su predicción con un simple biomarcador. La prueba predictiva ideal, debe utilizar una combinación de varios marcadores, ya que aportan información complementaria, y se mejora así la capacidad de predicción y el rendimiento del cribado. Basándose en la fisiopatología de la preeclampsia, los modelos de predicción de riesgo de preeclampsia más eficientes se han centrado en una combinación de la historia materna con

datos de la vasculatura materna (presión arteria y estudio Doppler de la arteria uterina), con uno o más biomarcadores séricos.

A día de hoy, el modelo predictivo con mayor rendimiento como prueba de screening de preeclampsia, realizado en el primer trimestre, fue publicado por *Akolekar y cols* en 2012 (86). Éstos analizaron una cohorte de 58884 gestantes de bajo riesgo en la semana 11+0 - 13+6. El modelo propuesto alcanza unas excelentes tasas de detección para la PE de inicio precoz a través de la combinación del índice de pulsatilidad de la arteria uterina (IP AUt), la presión arterial media (MAP), la proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A) y el factor de crecimiento (PIGF) a las 11-13 semanas de gestación, con una tasa de predicción del 93% para PE de inicio temprano y 38% para PE total con TFP fijo de 5%.

La identificación temprana de mujeres embarazadas en riesgo de desarrollar preeclampsia de inicio temprano, permite la aplicación de terapias preventivas para reducir el riesgo de enfermedad. Con este fin, el estudio ASPRE ha evaluado recientemente la utilidad de esta herramienta de screening combinado, y la eficacia del tratamiento con aspirina en la prevención de la preeclampsia sobre la población de mujeres en riesgo de PE pretérmino según dicho cribado combinado. Este estudio prospectivo multicéntrico ha demostrado que, en mujeres con embarazos únicos de alto riesgo para PE pretérmino, la administración de aspirina a una dosis de 150 mg por día desde la semana 11 - 14 hasta la 36, reduce la incidencia de PE pretérmino en más de un 60% (87).

Este nuevo enfoque para la detección de PE mediante cribado combinado con mediciones biofísicas y bioquímicas obtenidas a las 11-13 semanas de gestación, es muy superior a las recomendaciones actuales de NICE y ACOG, que basan su cribado en la identificación de individuos de riesgo en función de la existencia de algún factor indicativo de éste. En el Reino Unido, el Instituto NICE recomienda la identificación del grupo de alto riesgo en base de 10 factores, que incluyen ciertas características maternas, datos de la historia médica y obstétrica (88). Sin embargo, el rendimiento es pobre ya que sólo detecta al 39% de los casos de PE pretérmino, con una TFP del 10%. Por otro lado, el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG) recomienda el uso de aspirina en mujeres con antecedentes de PE en más de un embarazo o en caso de haber tenido PE que desencadenara parto antes de la semana 34 de gestación (20). Sin embargo, este subgrupo constituye aproximadamente el 0.3% de todos los embarazos, e incluye sólo el 5% de las mujeres que desarrolla PE pretérmino (87).

Además, los factores angiogénicos y antiangiogénicos como (sflt-1 y PIGF) también pueden ser

útiles en el triaje de pacientes sintomáticos con sospecha de preeclampsia, diferenciando la preeclampsia de exacerbaciones de condiciones médicas preexistentes. El estudio PROGNOSIS (estudio de predicción de resultados a corto plazo en mujeres embarazadas con sospecha de preeclampsia), fue diseñado para investigar la utilidad clínica del cociente sFlt-1: PIGF para la predicción de la presencia o ausencia de esta patología a corto plazo. Se identificó y validó un punto de corte de 38 para la relación sFlt-1: PIGF, evaluada con el uso de los inmunoensayos Elecsys sFlt-1 y PIGF, como un predictor útil de ausencia de preeclampsia a corto plazo en mujeres con embarazos únicos, y signos clínicos sugerentes del trastorno, mostrando un valor predictivo negativo del 99,3% y 78.3% de especificidad. El valor predictivo positivo para cocientes sFlt-1: PIGF superiores a 38 para el diagnóstico de preeclampsia en 4 semanas, fue del 36,7%, con un 66.2% de sensibilidad y un 83.1% de especificidad (89).

Un modelo predictivo clínico, el modelo PIERS (Preeclampsia integrated estimate of risk), hace una predicción de la probabilidad de desarrollar complicaciones maternas severas en los siguientes 7 días, utilizando las siguientes variables recogidas de 6-48 h después de la admisión de la paciente con sospecha de preeclampsia: edad de gestación, dolor de pecho o disnea, saturación de oxígeno, recuento de plaquetas, creatinina en suero y AST (90).

1.8.2. Prevención

La prevención de la preeclampsia puede ser primaria, secundaria o terciaria. La prevención primaria implica evitar el embarazo en mujeres con alto riesgo de PE, modificando su estilo de vida o mejorando la ingesta de nutrientes en toda la población, para disminuir la incidencia de la enfermedad. La prevención secundaria se basa en la interrupción de los mecanismos fisiopatológicos conocidos de la enfermedad antes de su establecimiento. Los esfuerzos recientes se han centrado en la selección de mujeres de alto riesgo y han propuesto una intervención efectiva, tan pronto como sea posible, para evitar la enfermedad o sus complicaciones graves. La prevención terciaria se basa en el uso de tratamientos para evitar las complicaciones de PE como por ejemplo con sulfato de magnesio, fármaco de elección para reducir la tasa de eclampsia (91).

Con una predicción de riesgo fiable para la preeclampsia en el horizonte, las intervenciones para prevenirla cobran más importancia. El screening de preeclampsia es útil para, antes de detectar la enfermedad, escoger a mujeres de alto riesgo de sufrirla, y adoptar las medidas preventivas oportunas que reduzcan el riesgo de desarrollo de este síndrome clínico. Motivados por el avance en materia de prevención, se han estudiado muchas estrategias

basadas en tratamientos tanto farmacológicos, suplementos nutricionales, cambios en el estilo de vida, para reducir la incidencia de esta enfermedad. Intervenciones como el descanso, el ejercicio, la ingesta reducida de sal, la suplementación con ajo, ácidos grasos omega-3, antioxidantes, óxido nítrico, vitamina D, heparina, metformina, progesterona y diuréticos han mostrado una evidencia insuficiente como para ser recomendadas. De todos los suplementos testados, sólo el calcio actualmente es recomendado por la OMS para las mujeres embarazadas con bajo consumo de este mineral en la dieta en la segunda mitad del embarazo, por su eficacia en la prevención de la PE en este grupo de población (92).

Como tratamiento farmacológico profiláctico, la aspirina a bajas dosis, especialmente cuando se inicia antes de las 16 semanas de gestación en grupos de alto riesgo, ha mostrado ser eficaz en la prevención de esta condición.

- **Aspirina**

La aspirina es una de los fármacos más antiguos en uso, y es un buen ejemplo de cómo los productos naturales, pueden ser optimizados a través de pequeñas manipulaciones químicas.

El uso de la corteza del sauce se remonta a 1.500 años a.C, ya que los egipcios empleaban infusiones crudas de corteza para aliviar dolores reumáticos y de espalda. Fue en 1900 cuando se introdujo en el mercado en forma de comprimidos de Aspirina® (93), nombre comercial del ácido acetilsalicílico (AAS) acuñado por los laboratorios Bayer.

Las propiedades farmacológicas de la aspirina se deben fundamentalmente a la inactivación de la COX-1, que resulta en una inhibición de la formación de prostaglandinas y tromboxanos, impidiendo la vasoconstricción y agregación plaquetaria.

Ya en 1979 se informó de la utilidad de la ingesta de aspirina en el embarazo para prevenir la preeclampsia (94), y desde entonces mucho se ha investigado sobre su eficacia para evitar su aparición. A día de hoy, la aspirina es el fármaco de elección para la prevención de la esta patología del embarazo, basada en los hallazgos de un metanálisis de datos de pacientes individuales (DPI) que mostraron un beneficio moderado de la aspirina (90). Dichos hallazgos se han confirmado con el estudio ASPRE, publicado recientemente en el New England, con una reducción de PE por debajo de la semana 34 de un 82% (95).

Una revisión sistemática publicada en 2007 (96) que incluyó 59 ensayos clínicos con 37.560 mujeres, mostró una reducción del 17% del riesgo de preeclampsia con el uso de agentes

antiplaquetarios ([46 ensayos, 32 891 mujeres; riesgo relativo [RR] 0,83; intervalo de confianza [IC] del 95%: 0,77 a 0,89); número necesario a tratar (NNT) 72 [52 a 119]). Aunque no hubo diferencias estadísticas en el RR de PE en pacientes tratadas vs no tratadas, hubo una reducción de los riesgos absolutos de PE en pacientes con alto riesgo tratadas con antiplaquetarios (diferencia de riesgos [DR] -5,2% [-7,5 a -2,9], NNT 19 [13 a 34]), en comparación con las pacientes que presentan riesgos moderados (DR -0,84 [-1,37 a -0,3], NNT 119 [73 a 333]). Además, el empleo de antiplaquetarios se asoció con una reducción del 8% en el riesgo relativo de parto prematuro, una reducción del 14% de las muertes fetales o neonatales y una reducción del 10% de los recién nacidos pequeños para la edad gestacional (96).

En resumen, la administración de dosis bajas de aspirina (60-80 mg) para prevenir la preeclampsia produce una ligera reducción del riesgo y los resultados perinatales adversos. Estos hallazgos no son clínicamente relevantes para las mujeres de bajo riesgo, pero pueden ser relevantes para las poblaciones de riesgo muy alto, en quienes el número a tratar para lograr el resultado deseado es sustancialmente menor (20).

El estudio ASPRE ha demostrado que en embarazos con alto riesgo de PE pretérmino identificado mediante cribado combinado a las 11-13 semanas de gestación, la administración de aspirina a dosis de 150 mg al día y por la noche, reduce la incidencia de PE aproximadamente un 60%. Incluso si la adherencia a la medicación es 90%, la reducción en la PE pretérmino llega a ser del 75% y alcanza el 95% si las mujeres con hipertensión crónica son excluidas, ya que gestantes con esta patología crónica, la aspirina no muestra ningún beneficio significativo sobre la incidencia de PE pretérmino (97).

En cuanto al momento de inicio de la profilaxis, en un metaanálisis reciente se demostró que las DBA (dosis bajas de aspirina) utilizadas antes de la decimosexta semana de embarazo, reduce el riesgo de PE (RR, 0,57; IC del 95%, 0,43-0,75; $p < 0,001$) pero cuando se emplea de forma posterior no produce ningún beneficio (98).

La dosis recomendada de aspirina varía entre 60 y 150 mg diarios, pero la dosis óptima sigue siendo incierta. Estudios observacionales sugirieron que 60-80 mg podrían ser insuficientes en algunas mujeres y que 100-160 mg pueden ser necesarios para optimizar la prevención de PE (99-100). En mujeres en las que se sospecha riesgo de PE dosis bajas de aspirina entre 75-100 mg / día son suficiente para inhibir irreversiblemente la de COX-1, inhibiendo la generación de tromboxano-A₂, con un efecto antitrombótico. Las dosis intermedias de aspirina (de 650 mg a 4 g / día) inhiben además de la COX-1 la COX-2 (101).

Con respecto a los riesgos de usar DBA durante el embarazo, los estudios no han encontrado asociación entre su uso y complicaciones en la madre o en el feto (96, 102). Estos estudios muestran la falta de asociación entre el uso de aspirina con anomalías congénitas, hemorragia intraventricular neonatal, cierre prematuro del conducto arterioso, hemorragia materna posparto o desprendimiento placentario aunque sí se relaciona con un evento adverso, el sangrado vaginal, pero éste no se asocia con pérdidas gestacionales (103). Como inconveniente, destaca la alergia a la aspirina o la intolerancia gástrica que pueden contrarrestar el uso de ésta durante el embarazo (104). En el estudio ASPRE se ha visto que la administración de AAS a dosis de 150 mg, reduce la PE sin efectos adversos maternos o fetales (95).

En la actualidad varias Sociedades Internacionales recomiendan ya la profilaxis con DBA a mujeres identificadas como de alto riesgo de PE, administrándolo antes de las 16 semanas de gestación (20,41,43) . La ISSHP recomienda la toma de aspirina a las mujeres consideradas de mayor riesgo de preeclampsia a una dosis entre 75 y 150 mg al día, comenzando preferiblemente antes de 16 semanas y hasta el parto. El NHS (National Health Service) recomienda administrar Aspirina a dosis de 75 mg/día desde la semana 12 de gestación a las gestantes con un factor de riesgo alto ó dos factores riesgo moderado. La ACOG también apoya el uso de dosis bajas de aspirina (81 mg / día) iniciadas entre las 12 y las 28 semanas de gestación y recomienda su uso cuando haya factores de alto riesgo, considerando alto riesgo cuando exista uno de los siguientes condiciones: antecedentes de preeclampsia, gestación múltiple, hipertensión crónica, diabetes de tipo 1 o tipo 2, enfermedad renal, enfermedad autoinmune (como lupus eritematoso sistemático, síndrome antifosfolípido). La OMS está en la misma línea y recomienda dosis bajas de AAS (75 mg) en mujeres de alto riesgo de desarrollar esta patología (105).

Actualmente, existen pruebas de screening de PE para determinar riesgo de PE (104) pero que en países en desarrollo pueden resultar demasiado costosas y, en este sentido, podría ser beneficioso recomendar el uso de DBA a toda gestante.

En resumen, el tratamiento con aspirina es la única intervención farmacológica para prevenir la preeclampsia para la cual existe evidencia robusta. También la suplementación con calcio se ha mostrado eficaz para poblaciones con bajo consumo de calcio en la dieta. El resto de intervenciones preventivas necesitan más investigación y no deben prescribirse fuera de ensayos clínicos.

1.9. MARCADORES PREDICTIVOS DE PREECLAMPSIA

Con el fin de reducir las complicaciones de la PE y desarrollar posibles tratamientos preventivos, es importante identificar a las mujeres en riesgo de desarrollar PE.

Puesto que la PE no se puede predecir sólo por antecedentes obstétricos previos y factores de riesgo, muchas investigaciones se han centrado en la identificación biomarcadores de mujeres con alto riesgo de desarrollar esta enfermedad. Esto permitiría un monitoreo más intensivo del grupo de alto riesgo, así como una intervención profiláctica específica, un diagnóstico y un tratamiento precoz. (106).

Debido a la fisiopatología compleja y la etiología de la PE, han sido investigados una amplia gama de posibles biomarcadores en suero, más de 400, que se pueden clasificar en diferentes categorías. Lo interesante es que además del propio valor predictivo como pruebas de screening o diagnóstico, estos biomarcadores pueden ayudar a conocer el mecanismo subyacente de la patogénesis de la PE.

Sin embargo, hasta la fecha todavía existe la necesidad insatisfecha de producir un único marcador comercialmente disponible como herramienta predictiva simple de la preeclampsia, que no requiera tecnología avanzada y recursos importantes para ser implementada en todos los entornos, incluidos los países de ingresos bajos a medios, con el fin de permitir una intervención temprana en mujeres de alto riesgo, que lleve a unos mayores niveles de atención (68). De hecho, la última revisión sistemática de la OMS al respecto, concluyó que no existe ninguna prueba de cribado (clínica, biofísica o bioquímica) rentable o fiable para la PE (8). Es vital desarrollar una herramienta de detección que sea clínicamente relevante debido a las serias consecuencias de una estratificación incorrecta del riesgo, y de una terapia o vigilancia inadecuada del embarazo.

De entre todos los parámetros investigados, los parámetros bioquímicos y clínicos que en esta tesis se estudiarán son:

1.9.1. Doppler de la arteria uterina

La ecografía Doppler permite estudiar el flujo sanguíneo de los vasos maternos y fetales, y por ello permite la evaluación del estado de la circulación útero-placentaria. El principio fisiopatológico de su uso se basa en la representación flujométrica en las arterias uterinas, que

evidencia una resistencia aumentada, consecuencia del el fallo en la conversión de las arteriolas uterinas de alta resistencia a canales venosos de baja resistencia.

Actualmente, se utiliza el índice de pulsatilidad (IP) promedio entre ambas arterias uterinas, con el valor p95 como punto de corte de normalidad/anormalidad (107). Se recomienda el uso de tablas de valores normales de IP según edad gestacional de cada población, pues es sabido que a medida que progresa el embarazo el IP va disminuyendo, como consecuencia de la disminución de la resistencia vascular por el proceso de placentación fisiológico (108).

1.9.2. Presión arterial media

La presión arterial media, se eleva significativamente desde el final del primer trimestre en pacientes que posteriormente desarrollan PE, por lo tanto que se ha incorporado en los algoritmos predictivos, con el fin de aumentar la tasa de predicción. El aumento de MAP en pacientes que posteriormente desarrollan PE, probablemente refleja una elasticidad reducida de las arterias combinada con un aumento de la vasoconstricción (79).

1.9.3. Biomarcadores

- **Pruebas de función hepática: Bilirrubina, ALT, AST, FA, LDH**

El hígado lleva a cabo el metabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas; algunas de sus enzimas y los productos finales de la vía metabólica son muy sensibles a la anomalía hepática ocurrida y pueden considerarse como marcadores bioquímicos de la disfunción hepática. Los marcadores hepáticos más empleados son bilirrubina sérica, alanina amino transferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), fosfatasa alcalina (FA), gamma glutamil transferasa (GGT).

Durante el embarazo, los niveles séricos de estrógenos y progesterona aumentan progresivamente y afectan las funciones hepáticas: metabólicas, sintéticas y excretoras. Los cambios en los valores de las pruebas de función hepática durante el embarazo pueden ser fisiológicos, pero también pueden presentarse como un signo inicial de afecciones patológicas. El embarazo normal se asocia generalmente con un leve aumento de la fosfatasa alcalina sérica, con concentraciones normales de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) (109).

En la preeclampsia existen evidencias de que la LDH y las transaminasas aumentan incluso antes de la aparición de los síntomas (110). El vasoespasmo generalizado, la disfunción

endotelial vascular, el metabolismo anormal de los lípidos y la resistencia a la insulina, pueden influir en el hígado y ser la causa de su aumento (41). Además, en la preeclampsia se liberan diferentes mediadores del hígado y del endotelio de los vasos sanguíneos (fibronectina, trombosmodulina, endotelina-1, tromboxano), que causan vasoconstricción e hipoxia hepática. La hipoxia en el hígado causará necrosis y degeneración de hepatocitos, y por lo tanto aumentan los niveles de AST y ALT (111). Está descrito que las concentraciones de AST y ALT son más altas en la PE, pero normalmente están dentro del rango de referencia, sobre todo en etapas tempranas del embarazo. Altos niveles de AST y ALT durante las primeras 20 semanas de embarazo, están asociados con un mayor riesgo de desarrollar preeclampsia durante la segunda mitad del embarazo pero sin embargo, no tienen buen rendimiento como pruebas de cribado por sí solas (112).

En gestantes con PE, se recomienda determinar ALT y AST para valorar la función hepática, ya que aparte de ser criterio diagnóstico, también es un criterio de severidad, y su aumento es un rasgo característico del síndrome de HELLP. Pero la elevación de las transaminasas sólo ocurre en aproximadamente el 10% de las gestantes con preeclampsia.

Además la hipoxia altera la membrana celular, permitiendo el paso de las moléculas de LDH al plasma. El gen LDH-A en las células endoteliales de la placenta dentro de la microvasculatura fetal aumenta en la preeclampsia, probablemente como resultado de la hipoxia (113), por lo que la LDH también se encontrará aumentada. Una concentración sérica de LDH elevada es también un signo de hemólisis microangiopática, y un marcador de severidad o de síndrome de HELLP.

La bilirrubina es conocida por ser una potente proteína de estrés, que confiere protección a células y tejidos por sus propiedades antioxidantes. En la placenta de mujeres que desarrollarán preeclampsia, hay un mayor estrés oxidativo e inflamación que en los embarazos normales. Dadas las potentes propiedades antioxidantes de la bilirrubina, bajos niveles de bilirrubina hacen más susceptibles a madre y al feto de sufrir la presentación clínica, pero altas concentraciones no confieren protección. Además, los niveles de bilirrubina son más bajos en las formas más severas, por un mayor consumo de antioxidantes. El aumento en los niveles de bilirrubina indirecta (no conjugada) es indicativo de hemólisis significativa, característica del síndrome de HELLP.

- **Marcadores de Inflamación**

- ✓ *PCR*

La proteína C reactiva (PCR) se identificó en los años treinta como una proteína plasmática asociada con respuestas inflamatorias agudas (114), y se denominó así por ser una proteína que se une al polisacárido C de la pared celular neumocócica.

La PCR es un reactante de fase aguda, útil como marcador sensible de daño tisular e inflamación. Se sintetiza en el hígado, y se libera en respuesta a las citoquinas proinflamatorias como IL-6 y TNF- α . Pero los cambios en los niveles de PCR no son específicos de infección, y se utilizan para el diagnóstico y el seguimiento de muchas enfermedades inflamatorias y malignas. En la PE existe una respuesta inflamatoria exagerada persistente, por lo que la PCR se eleva en las mujeres que la desarrollan, sobre todo en sus formas más graves. Esta respuesta inflamatoria contribuye a un mayor síndrome de disfunción endotelial, trombosis y trastornos metabólicos observados.

Hasta hace poco, la PCR sólo se utilizaba a nivel clínico para controlar la actividad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento en pacientes con una variedad de enfermedades inflamatorias, pero con la llegada de ensayos más sensibles, la PCR de alta resolución, se pueden cuantificar sutiles diferencias en los niveles de proteína C reactiva, y utilizarse para detectar la inflamación antes de que se manifiesten las consecuencias clínicas (115). En la década pasada, las elevaciones de la PCR en suero se han asociado con riesgo de enfermedad cardiovascular (ECV), y sus niveles séricos se han utilizado como biomarcador clave en el cribado, diagnóstico y manejo de la enfermedad coronaria. El paralelismo entre las alteraciones metabólicas en la PE y las ECV son sorprendentes, ya que comparten muchos factores de riesgo y mecanismos patogénicos. Por ello, se ha estudiado la relación de la PCR con preeclampsia como posible predictor del síndrome y factor contribuyente de su patogénesis (116-117).

Se ha demostrado que los niveles de la PCR son más altos en mujeres embarazadas en comparación con las no embarazadas y en mujeres con preeclampsia con respecto a las gestantes sanas, hallando diferencias desde el primer trimestre (115, 118) Sin embargo, la utilidad de la PCR en la predicción preclínica de la preeclampsia ha sido menos consistente, y todavía hay debate sobre su uso potencial como marcador precoz de la preeclampsia ya que su valor predictivo es bajo (118).

Además, la PCR está más aumentada en mujeres obesas, y la obesidad es un FR para la preeclampsia. En modelos multivariados, el IMC mitiga la asociación entre PCR y PE, lo que sugiere que la PCR no está asociada con la preeclampsia, o que el IMC y la PCR podrían compartir una vía común que vincula la obesidad con la preeclampsia. La inflamación podría ser parte de una vía causal a través de la cual la obesidad predispone a la preeclampsia (115).

✓ *IL-6*

Desde un punto de vista fisiológico, la preeclampsia se caracteriza por elevados niveles circulantes de IL-6, pero la expresión de IL-6 en placenta no es diferente entre gestantes con preeclampsia y gestantes sanas (119).

La IL-6 es producida por una amplia gama de tipos de células, incluyendo trofoblastos, células endoteliales, fagocitos mononucleares, fibroblastos y células T, expresadas en el tracto reproductivo y en los tejidos gestacionales. Ejerce múltiples funciones reguladoras en la implantación embrionaria y en el desarrollo placentario, así como en las adaptaciones inmunológicas necesarias para tolerar el embarazo (120). La IL-6 es una citoquina multifuncional que regula la hematopoyesis, la reacción de fase aguda, eventos tanto pro como los antiinflamatorios, la presión sanguínea a través de la regulación del sistema renina-angiotensina, el sistema nervioso simpático y factores endoteliales, ya que puede aumentar la permeabilidad de las células endoteliales cambiando la forma celular y la reordenación de las fibras de actina intracelulares (121). También modula la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis e induce la producción de restos trofoblásticos necróticos de la placenta, lo cual puede ser importante en la patogénesis de preeclampsia, ya que la fagocitosis de estos restos induce una activación endotelial, que lleva a una mayor expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y un aumento de la secreción de IL-6 por éste (122). Se crea un círculo vicioso, ya que la IL-6 induce la producción de restos trofoblásticos necróticos de la placenta, que a su vez induce la secreción de más IL-6 por el endotelio que culmina en el síndrome materno.

No hay consenso sobre la utilidad clínica de la IL-6 en el diagnóstico y cribado de preeclampsia, ya que los resultados son variables entre diferentes estudios. Algunos indican que ya se observa un aumento significativo de IL-6 en plasma materno en PE severa antes de la aparición de los signos clínicos PE (123-124), mientras que otros como Ozler y cols., (125) no encontraron diferencias significativas en los niveles séricos de IL-6 entre los grupos de embarazos no complicados y en mujeres con PE leve y PE severa.

- **Función renal y preeclampsia**

- ✓ *Creatinina*

La determinación de la creatinina en suero sirve para el diagnóstico y el control de enfermedades renales agudas y crónicas, así como para la estimación del Filtrado Glomerular (FG). La medición del filtrado glomerular estimado (FGe), es un buen método para evaluar dicha función y se calcula a partir de diversas fórmulas, siendo lo más común la estimación a partir de la creatinina.

El aumento fisiológico de la tasa de filtración glomerular durante el embarazo, normalmente resulta en una disminución de la concentración de creatinina sérica, que disminuye en un promedio de 0,4 mg/dL, hasta un rango en el embarazo de 0,4 a 0,8 mg/dL. Por lo tanto, una creatinina sérica de 1,0 mg/dL, aunque es normal en una mujer no embarazada, puede reflejar el deterioro de la función renal en una mujer embarazada.

La creatinina se elimina por filtración glomerular a través de los riñones, y se excreta en la orina sin reabsorción tubular. En la disfunción renal, la capacidad de los riñones para filtrar la creatinina disminuye, conduciendo a un aumento de la creatinina sérica. El inconveniente es que esta prueba no es adecuada para detectar la disfunción renal en etapas tempranas, ya que los niveles de creatinina sérica solamente aumentan cuando hay un marcado daño de las nefronas (126), lo cual es un inconveniente para detectar estados tempranos de afectación renal por preeclampsia (127). Al no ser un marcador precoz, no hay estudios que evalúen la eficacia de este biomarcador en suero como parámetro de screening de PE.

En la actualidad, se recomienda la determinación de creatinina sólo como ayuda al diagnóstico y en la evaluación de la severidad del cuadro, ya que en pacientes con hipertensión los niveles de creatinina sérica > 1,1 mg/dL son indicativos de preeclampsia (17).

- ✓ *Cistatina C*

La cistatina C es un marcador bien establecido de la función renal, que aumenta a medida que disminuye la tasa de filtración glomerular y mediante el cual se puede estimar también el FG.

La expresión placentaria de la cistatina C, aumenta en la PE desde el primer trimestre de embarazo, siendo las concentraciones séricas medias de cistatina C ya en el primer trimestre del embarazo significativamente más altas en las mujeres que posteriormente desarrollan PE en comparación con aquellas con un embarazo normal (128). En un principio, se pensó que los

niveles incrementados de cistatina C eran secundarios a la reducción de la eliminación renal, pero más tarde se observó que la concentración en suero y en placenta está significativamente elevada varios meses antes de desarrollar el cuadro clínico, no sólo en preeclampsia de inicio temprano, sino también en inicio tardío, lo que sugirió que la cistatina C puede tener un papel importante en la etiología de la preeclampsia (129).

La evidencia indica que las proteasas tales como cisteína proteasas (catepsinas), son necesarias para la degradación de la matriz extracelular, asociada con la invasión de trofoblasto observada en el desarrollo placentario normal. Se considera que la decidua materna, puede limitar el proceso de placentación mediante la expresión de cistatina C, un inhibidor específico de cisteína proteasa, y por ello se cree que el desequilibrio entre catepsina y cistatina C, pueda estar implicado en la etiología de la preeclampsia (130).

Al estar alterado en las primeras etapas del embarazo, se pensó en la posibilidad de que la cistatina C pudiera ser un marcador precoz potencialmente útil en el screening de PE biológicamente plausible. La cistatina C no es útil desde el punto de vista clínico como marcador único, dado su bajo rendimiento como prueba de screening, pero podría ser útil en combinación con otros, ya que puede haber cierta sinergia en su capacidad predictiva (131). Por otro lado, las elevaciones en el tercer trimestre pueden ser consecuencia, tanto de una reducción de la filtración glomerular, como de un aumento en la síntesis de cistatina C (132).

Además, los niveles séricos de cistatina C pueden tener un papel importante como marcador en el diagnóstico de preeclampsia, y como marcador alternativo de función renal en la preeclampsia. Presenta algunas ventajas frente a la creatinina, ya que la determinación de la cistatina C, no depende de la recolección de orina, es menos dependiente de la composición corporal y no hay diferencias significativas en sus niveles entre mujeres sanas no embarazadas y embarazadas.

Los resultados de los estudios demuestran que, los niveles séricos de cistatina C en pacientes con PE son significativamente más altos, en comparación con el grupo control desde el primer trimestre (132), y además se ha puesto en evidencia que, el aumento de los niveles de cistatina C se asocia con la severidad de la enfermedad (133).

✓ *Filtrado Glomerular*

La medición real del FG es aceptada como el mejor método para evaluar la función renal. Como el FG resulta difícil de medir en la práctica clínica diaria, se estima normalmente a través de la determinación de la creatinina sérica y una fórmula para estimar el FG.

Durante el embarazo normal, los riñones aumentan de tamaño y el volumen renal puede aumentar hasta un 30%. La tasa de filtración glomerular (TFG) aumenta en aproximadamente 40% a 50% por encima de los niveles basales en el embarazo, por lo que una creatinina sérica en rango normal, puede realmente reflejar una insuficiencia renal significativa en una mujer embarazada (134).

Diversas organizaciones y sociedades científicas nacionales e internacionales, recomiendan el uso de ecuaciones que estiman el FG a partir del valor plasmático de creatinina, para facilitar la detección, evaluación y manejo de la enfermedad renal como por ejemplo MDRD (Modification of Diet in Renal Disease), Cockcroft-Gault y CKD-EPI. Hay que tener en cuenta que la fórmula MDRD subestima sistemáticamente la TFG cuando la está por encima de 60 ml / min, y ante las altas TFG que se dan durante el embarazo, esta inexactitud puede ser más pronunciada, por lo que no se recomienda su uso durante el embarazo. Además, fórmulas basadas en el peso, como Cockcroft-Gault, pueden sobrestimar la TFG debido a que el aumento del peso corporal del embarazo(135). Las nuevas guías recomiendan el uso de la fórmula CKD-EPI (CKD Epidemiology Collaboration) de 2009 para calcular el filtrado glomerular (GR 1B), ya que a pesar de sus limitaciones ha mostrado ser tan precisa como MDRD en el subgrupo con FG estimado <60 ml / min / 1,73 m², y sustancialmente más precisa en el subgrupo con FG estimado > 60 ml / min / 1,73 m².

La fórmula de Cockcroft-Gault, MDRD y las fórmulas de CKD-EPI, fueron evaluadas por Alper y cols. para valorar su exactitud en la preeclampsia, pero todas estas ecuaciones eran inexactas en la predicción de FG en mujeres preeclámpticas, en comparación con el aclaramiento de creatinina obtenida con orina de 24 h (136). Encontraron que la fórmula de Cockcroft-Gault, sobreestimó la TFG en aproximadamente 40 ml / min, mientras que las fórmulas MDRD subestimaron la TFG (19,68 ml / min para MDRD completa y 12,6 ml / min para MDRD modificada), pero la TFG promedio en los participantes en el estudio fue muy superior a 60 ml / min, un intervalo de FG para el cual se sabe que la fórmula MDRD es inexacta.

Como hemos visto, la estimación del FG mediante fórmulas basadas en la creatinina sérica, puede ser poco exacta en determinadas circunstancias, como el embarazo. En ciertas situaciones en las que sea preciso optimizar la valoración del FG, se sugiere la determinación de la cistatina C y del FG estimado por una ecuación basada en la cistatina C (preferiblemente CKD EPI cistatina), o una evaluación del aclaramiento de creatinina previa recogida de orina de un período de tiempo determinado (137).

J.F.Roos y cols (132) recogen en un metaanálisis una mayor sensibilidad (81%) y similar especificidad (88%) diagnóstica, en la detección de daño en la función renal para la cistatina C, comparada con la creatinina en suero (69 y 88%, respectivamente). Dharnidharka y cols (138) mostraron en otro metaanálisis, una correlación con los métodos de referencia de estimación del FG superior para la cistatina C respecto a la creatinina ($r=0,816$ y $r=0,742$ respectivamente), y un mayor área bajo la curva de rendimiento diagnóstico para la cistatina C de 0,926 (IC del 95%: 0,892-0,960) respecto a 0,837 (IC del 95%: 0,796-0,878) de la creatinina (139).

El diagnóstico rápido y el tratamiento precoz de la preeclampsia, son necesarios para la preservación de la función renal y la prevención de lesiones renales. La monitorización de la función renal usando la estimación basada en creatinina, es una parte rutinaria de la práctica clínica, pero es poco sensible para el diagnóstico precoz. La evidencia ha demostrado que la cistatina C mejora la estimación del FG para definir el daño renal en esta población, y permite un diagnóstico rápido y una intervención terapéutica temprana de la preeclampsia para mejorar su resultado (140).

- **Marcadores de dislipemia**

- ✓ *Colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL y triglicéridos*

Durante el embarazo normal el metabolismo lipídico se ve modificado. En el primer trimestre, los niveles de lípidos son similares a los niveles de una mujer no gestante. En cambio, durante el segundo y tercer trimestre del embarazo, existe una desviación significativa de los niveles de lípidos. Los niveles de colesterol total aumentan un 50%, los triglicéridos aumentan entre 2 y 4 veces, el colesterol HDL (HDL-C) aumenta en un 30%, mientras que el de baja densidad (LDL-C) aumenta un 50% (141). Estos cambios en el metabolismo lipídico durante el embarazo, promueven la acumulación de reservas para servir como fuente de energía a la madre y al feto, en el embarazo tardío y durante la lactancia.

Los marcadores de dislipemia podrían ser predictores de la preeclampsia, ya que hay mecanismos biológicos consistentes, por los cuales la dislipemia puede aumentar el riesgo de preeclampsia. Por ejemplo, el aumento de los niveles de lípidos circulantes favorece su acumulación dentro de las células endoteliales, lo cual disminuye la liberación de prostaciclina, produciendo un aumento del estrés oxidativo y disfunción endotelial (142).

Se han evaluado los niveles de lípidos en mujeres con preeclampsia frente a embarazos normales, pero los resultados son contradictorios para el colesterol total, colesterol HDL y LDL. Sin embargo los triglicéridos no generan tanto debate, y se encuentran niveles significativamente más elevados desde el primer trimestre en el grupo de pacientes con PE (143-144).

En cuanto a su uso como marcadores tempranos de riesgo de preeclampsia, un reciente metaanálisis concluyó que los niveles de colesterol total sérico materno, colesterol no HDL y triglicéridos, están más elevados desde el primer trimestre de embarazo en mujeres que posteriormente desarrollan preeclampsia, en comparación con las mujeres que permanecen normotensas durante el embarazo (145). Si hubiera más evidencia sobre estos marcadores sería un hallazgo clínicamente útil, porque los niveles de lípidos maternos se pueden medir fácilmente en todos los laboratorios clínicos, con paneles lipídicos de rutina de bajo coste, que podrían servir como un método rentable para la identificación de las mujeres embarazadas en riesgo de desarrollar preeclampsia (145).

✓ *Lipoproteína (a)*

La lipoproteína (a) [Lp (a)] se identificó por primera vez y se clasificó como una "variante de lipoproteína de baja densidad", hace más de 40 años. Es similar a la lipoproteína de baja densidad (LDL), pero contiene una proteína adicional, apo (a), a la cual se une a través de la porción B100. La Lp (a) es una lipoproteína única y factor de riesgo independiente para el desarrollo de enfermedad vascular, ya que su elevación puede provocar un efecto proaterogénico y protrombótico.

Los estudios en humanos han demostrado que los niveles de Lp (a) son enormemente variables, y están bajo un estricto control genético, en gran parte por el gen de la apolipoproteína (a), e incluso hay un número considerable de individuos que no tienen Lp (a), sin consecuencias aparentes. Su función más importante parece ser la ayuda a la cicatrización

de heridas, por la afinidad de apo (a) hacia la fibrina, su capacidad para transportar colesterol y para promover la división celular.

La evidencia científica ha demostrado que Lp (a) tiene una afinidad sobre la pared arterial, donde se acumula, predisponiendo a la aterosclerosis y a enfermedades tromboticas (146). Además el elemento apo (a) tiene una estructura similar al plasminógeno, permitiendo que las partículas Lp (a) reduzcan la actividad fibrinolítica fisiológica del plasminógeno, mediante la unión competitiva de receptores endoteliales de éste, resultando un efecto protrombótico.

Como hemos visto anteriormente, en la patogénesis de la PE, la lesión de la célula endotelial desempeña un papel importante. La similitud entre la disfunción endotelial de la PE y el proceso de aterosclerosis, ha llevado a los investigadores a considerar el papel de Lp (a) en la PE.

Durante el embarazo los niveles de Lp(a) aumentan con la edad gestacional, y siguen la misma evolución que otras fracciones lipídicas, cayendo a niveles normales antes del parto, y se normalizan unos seis meses más tarde.

En las mujeres con preeclampsia, la mayoría de estudios muestran niveles aumentados de Lp(a) en comparación con gestantes sanas, pero sin embargo hasta la fecha, no se ha demostrado su asociación con resultados adversos en embarazadas (147). En una revisión reciente, que incluyó nueve estudios, se evaluó la Lp (a) en la preeclampsia. Tres estudios mostraron un aumento del nivel de Lp (a) en sujetos con preeclampsia en comparación con los controles (embarazadas sanas) (148). Uno de los estudios mostró una disminución del nivel de Lp (a) en sujetos con preeclampsia grave, que parecía que pudo deberse a un daño endotelial más extenso en la PE grave, y por lo tanto un mayor consumo de Lp (a) como proteína de fase aguda (149). El resto de estudios no mostraron diferencias significativas en los niveles de Lp (a) en sujetos con preeclampsia en comparación con controles sanos (150-151).

Como marcador temprano, tras una amplia revisión, no hemos encontrado estudios que evalúen su utilidad como prueba de screening de riesgo de preeclampsia.

Sí se ha demostrado una asociación de riesgo de crecimiento fetal restringido y los niveles elevados de lipoproteína (a) ($> 0,7$ g / l [p 95%], OR 2,9, P = 0,048), estableciendo que niveles elevados de lipoproteína (a), podrían tener importancia en la patogénesis de RCF (152), con la que la PE comparte mecanismos fisiopatológicos (147).

✓ *Leptina*

La leptina es una hormona que desempeña un papel importante en varios procesos fisiológicos. Está implicada en la regulación de la función endocrina, la inflamación, la reproducción, la angiogénesis, la función inmune y el metabolismo, mediante la reducción de la secreción de insulina, y mediante una acción sobre los receptores hipotalámicos (sobre los que controla la ingesta de alimentos y aumenta el gasto energético) (153).

La principal fuente de leptina es el tejido adiposo, pero durante el embarazo también es sintetizada por los trofoblastos de la placenta. Los niveles séricos maternos de leptina aumentan desde el primer trimestre, antes de un aumento significativo de peso materno, alcanzando un pico durante el segundo o tercer trimestre, cayendo poco tiempo después del parto.

Su función durante el embarazo es importante ya que se sugiere que la leptina desempeña un papel en la angiogénesis, la inmunomodulación y el metabolismo de los ácidos grasos en la placentación temprana. La desregulación en los niveles de leptina, puede indicar o conducir a enfermedad materna como por ejemplo la preeclampsia, donde los niveles de leptina placentaria y los niveles de leptina circulantes están aumentados. La leptina se cree que aumenta como resultado de la perfusión placentaria reducida y/o porque la inflamación estimula su expresión, para garantizar el aporte de nutrientes al feto (154).

Estudios previos en embarazos con PE establecida, han descrito sistemáticamente que la concentración de leptina en circulación materna está aumentada (155-156) y muchos relacionan los niveles con la severidad del cuadro (157,248) .

Hay varios estudios que demuestran que las concentraciones séricas de leptina medidas en el inicio del embarazo, son significativamente más altas en las mujeres que desarrollan más tarde preeclampsia, en comparación con los controles normotensos después de ajustar por factores de confusión conocidos como el IMC, por lo que podría ser un buen biomarcador para el screening del riesgo de PE (154). Por el contrario, otros dos estudios no hallaron diferencias significativas en los niveles de leptina a las 7-13 y 18 semanas de gestación respectivamente, que posteriormente desarrollaron PE en comparación con los controles (159-160)



Figura 7. Relación entre el aumento de leptina y el crecimiento fetal restringido de la PE severa. La insuficiencia placentaria causa tanto aumento de la producción de leptina como supresión del crecimiento fetal (241).

- **Marcadores de estrés oxidativo**

- ✓ *Capacidad antioxidante total del suero y estatus antioxidante*

La capacidad antioxidante del suero en la circulación materna se puede determinar midiendo estatus antioxidante total (TAS), la concentración de antioxidantes específicos o la actividad de enzimas antioxidantes. Sin embargo, ningún antioxidante aislado puede indicar la actividad defensiva del organismo como el estado antioxidante total (TAS), que es una medida de la capacidad antioxidante, sumatorio de la todos los antioxidantes, tales como enzimáticos (como la catalasa), no enzimáticos (como vitaminas C, vitamina E, Coenzima Q) y antioxidantes celulares (como ácido úrico, bilirrubina) (161).

El embarazo tiende a incrementar el estrés oxidativo (EO), ya que hay evidencia de que muchos marcadores de EO se incrementan en este periodo, a la par que disminuye la capacidad antioxidante total del suero y caen los niveles séricos de vitaminas. Por este motivo se recomienda la suplementación con vitaminas durante el embarazo (162).

Aunque la etiología de la PE no se entiende completamente, estudios recientes sugieren que un desequilibrio entre la producción de radicales libres y el sistema de defensa antioxidante, podría tener un papel clave en la patogénesis de PE. De hecho, la disfunción endotelial característica de la PE es una consecuencia conocida del estrés oxidativo, por lo que éste puede estar relacionado causalmente con la PE (163).

Un metaanálisis que revisó la peroxidación lípica como indicador del estrés oxidativo y los niveles de antioxidantes, concluyó que hay una asociación clara entre el aumento de peroxidación lipídica y la deficiencia de antioxidantes tanto enzimáticos como no enzimáticos en la preeclampsia (164).

Además, varias publicaciones han mostrado la relación entre el EO de las primeras etapas del embarazo y el riesgo de PE futura, estableciendo que existe una asociación entre el aumento del estrés oxidativo materno, a la vez que se reduce la actividad antioxidante (enzimática y no enzimática) en las mujeres que desarrollan posteriormente PE (165-166). En cuanto a la asociación entre la capacidad antioxidante total del suero (TAC) y la preeclampsia, datos recientes sugieren que la disminución del TAC sérico se asocia con mayor riesgo de desarrollo de PE (161,162,163,164,165,166,167)(167)(167).

✓ *Homocisteína*

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido que contiene un grupo tiol y es la forma desmetilada del aminoácido esencial metionina. La homocisteína es un marcador de estrés oxidativo y de daño endotelial. Los niveles séricos elevados son un factor de riesgo para disfunción endotelial y enfermedad vascular, como la aterosclerosis y los trastornos vasculares oclusivos (168). Se ha reconocido que los elevados niveles plasmáticos maternos de homocisteína (Hcy), juegan un papel importante en la etiología de la preeclampsia, ya que la hiperhomocisteinemia induce daño oxidativo y puede contribuir a la disfunción de las células endoteliales característica de la PE (169)

Durante la gestación los niveles medios de homocisteína disminuyen de forma fisiológica por el aumento de estrógenos, hemodilución o por la demanda de metionina por la madre y el feto.

En una revisión sistemática, se evaluó y cuantificó la relación entre la hiperhomocisteinemia y la preeclampsia, y la mayoría de los estudios mostraron una asociación positiva entre ellas. Las concentraciones aumentaron ligeramente en los embarazos normotensos que posteriormente desarrollaron preeclampsia, y estuvieron considerablemente aumentados en pacientes con PE establecida (170), asociándose además los niveles con la severidad del cuadro (171-172)

Varios estudios indican que los niveles plasmáticos de homocisteína durante el embarazo, están aumentados desde la 16ª semana de gestación hasta el parto, en mujeres que desarrollan posteriormente PE, en comparación con las gestantes sanas (173-174). Otros

estudios indican que la monitorización de Hcy durante el embarazo, permite la detección temprana de las mujeres en riesgo de desarrollar preeclampsia (175). Aunque la investigación reciente apoya esta hipótesis, todavía no se han formulado recomendaciones sobre el uso de esta prueba en la práctica clínica rutinaria, para el cribado de pacientes que están en riesgo de desarrollar preeclampsia.

✓ *Ácido úrico (AU)*

Ya en 1917 se estableció una asociación entre la hiperuricemia y la PE (176), y es desde entonces es la prueba más estudiada detrás de la proteinuria en esta patología (177).

Los niveles de ácido úrico disminuyen en el primer y segundo trimestres del embarazo normal, debido al aumento del volumen plasmático, la tasa de filtración glomerular y la excreción fraccional de ácido úrico. Posteriormente, los niveles aumentan hasta alcanzar niveles semejantes a los de las mujeres no gestantes, posiblemente debido al aumento de la producción fetal, disminución de la unión a la albúmina y una disminución en el aclaramiento del ácido úrico.

Está demostrado que los niveles séricos son más altos en mujeres con preeclampsia debido, en parte, al deterioro de la función renal. Además, bajo condiciones de hipoxia o isquemia placentaria, aumenta la conversión de la xantina deshidrogenasa en xantina oxidasa que, promueve la producción de ácido úrico a partir de purinas degradadas (tales como xantina e hipoxantina) (165). Sin embargo, el aumento de los niveles de AU no son específicos de la PE y también pueden asociarse con otros estados fisiopatológicos(178).

También se han observado mayores niveles de ácido úrico en las primeras semanas de gestación, de mujeres gestantes que desarrollan más tarde preeclampsia, apoyando la teoría de que el ácido úrico puede ser un marcador precoz de la preeclampsia (179-180), pero su utilidad ha sido objeto de debate. Hay revisiones que niegan la capacidad del AU para predecir la PE (178) como *Dekker y Sibai* (181) y *Conde-Agudelo y cols* (182) que concluyeron que no hay evidencia de que la determinación de los niveles de AU pueda utilizarse como prueba de cribado para predecir la PE. Otras revisiones apuntan que la medición de AU ha mostrado utilidad, aunque limitada, en la predicción de PE(183-184).

Por otro lado, se ha observado la posible intervención del ácido úrico en la fisiopatología de la preeclampsia, ya que puede propagar el daño endotelial e inflamatorio (78), aunque también tiene propiedades antioxidantes.

También se han hecho revisiones sistemáticas, analizando la capacidad del ácido úrico para predecir los resultados adversos en mujeres con preeclampsia, estableciendo que es un pobre predictor de resultados adversos y complicaciones materno-fetales en mujeres con preeclampsia. Por ello, algunas guías recomiendan no medirlo (90).

- **Factores angiogénicos**

Muchos estudios han evaluado los niveles de factores angiogénicos en la preeclampsia.

- ✓ *PIGF*

El factor de crecimiento placentario (PIGF), ha sido el segundo miembro de la familia VEGF en descubrirse. Es un marcador proangiogénico, que circula a altas concentraciones en embarazos normales ya que se expresa en la placenta en todas las etapas de la gestación. Parece que controla el crecimiento y la diferenciación del trofoblasto, sugiriendo así un papel de la proteína durante la invasión del trofoblasto en la decidua materna (185).

La expresión de PIGF es heterogénea en los embarazos sin complicaciones durante el primer trimestre, y los niveles tienden a aumentar desde la semana 15 de embarazo hasta la 27-32 disminuyendo después hasta la semana 40 en el embarazo normal (186).

En embarazos complicados por preeclampsia, niveles circulantes de PIGF libre disminuyen en respuesta a la liberación de un receptor soluble de tirosina Quinasa-1 (sFLT1) secundaria a la hipoxia, el estrés oxidativo y la inflamación (187).

PIGF ha sido investigado de forma extensa como marcador de screening de PE, y la reducción de éste es evidente tanto en el primer como en el segundo trimestre del embarazo, en mujeres que desarrollarán posteriormente PE (84). Se ha demostrado que sus niveles son más bajos desde la semana de gestación 11-13⁺⁶, y por lo tanto ha sido incluido en varios algoritmos de predicción, donde se han obtenido buenos resultados, sobre todo para la PE de inicio temprano (188). Como biomarcador único, el PIGF tiene un 47% de tasa de detección con un 5% de FP.

PIGF unido a los parámetros biofísicos, ha mostrado buena precisión para la predicción de PE, con tasas de detección, cuando se usa el IP de la AU, MAP y PLGF, de hasta el 95.8% para PE de aparición previa a la semana 34, 77.3% si aparece antes de las 37 semanas y de 52.95% para PE que aparece antes de la 42 semanas de gestación, para una tasa de falsos positivos del 10% (189).

✓ *sFlt-1*

Desde que *Maynard y cols.* (9) descubrieron que la producción excesiva del receptor de tirosina quinasa-1 en su forma soluble (sFlt-1), un antagonista del factor de crecimiento endotelial vascular y del factor de crecimiento placentario (PIGF), contribuye a la patogénesis de la PE, se han llevado a cabo muchos estudios sobre la utilidad de los marcadores de angiogénesis, tanto en el diagnóstico como en la predicción de la preeclampsia.

Los niveles de sFlt-1 en el primer y principios del segundo trimestre, han tenido discrepancia según estudios, y hay quien considera que sFlt-1 no tiene ningún valor clínico como biomarcador predictivo de PE en el embarazo temprano. De hecho, varios estudios informaron niveles semejantes de sFlt-1 entre los casos y los controles en el primer trimestre, otros han mostrado niveles más elevados e incluso, se ha informado sobre niveles más bajos de sFlt-1 en individuos que más tarde sufrieron PE, en comparación con gestaciones sanas (190). Sin embargo, estudios recientes han valorado su inclusión en modelos predictivos, resultando útil la adición de este biomarcador en muchos casos (190), con resultados similares propuestos por la Fetal Medicine Foundation (FMF). En la PE tardía, los factores angiogénicos mejoran la tasa de detección (TD) en un 9% con la adición de PIGF sólo y un 26% con PIGF y sFlt-1, lo que permite TD totales de 52 y 71%, respectivamente, cuando todos ambos factores son combinados (189). Al comparar estudios publicados sobre sFlt-1, es notable que los niveles entre los controles varían ampliamente 166 pg / ml a 6349 pg / mL, lo cual podría explicarse por las diferencias en el tiempo de recogida de las muestras, que van de 8 a 14 semanas de gestación, el uso de suero o plasma, el tipo de kits comerciales utilizados y las condiciones de almacenamiento de las muestras (190).

Sobre lo que no hay discrepancia, es sobre que sFlt-1 está significativamente elevado en el segundo trimestre del embarazo, y por lo tanto se considera útil para la predicción de la PE a partir de la semana 20 en adelante (191-192).

✓ *Ratio sFlt-1:PIGF*

El efecto combinado de PIGF y sFlt-1 (relación PIGF: sFlt-1), se ha sugerido como uno de los mejores métodos para predecir la preeclampsia antes del inicio de la enfermedad, y mejor que el uso de los marcadores individuales (193).

En la preeclampsia, los niveles séricos de sFlt-1 aumentan y los del factor de crecimiento placentario (PIGF) están disminuidos, lo que resulta en un aumento del ratio sFlt-1 / PIGF, que

se puede detectar antes de que debuten los síntomas maternos de PE. Esta alteración es más pronunciada en la aparición temprana que en la aparición tardía, y se asocian con la gravedad del trastorno clínico (89,194)

La estimación de la relación sFlt-1:PIGF, permite identificar a las mujeres con alto riesgo de parto inminente y resultado adverso materno y neonatal (195). El reciente estudio PROGNOSIS (Predicción del resultado a corto plazo en mujeres embarazadas con sospecha de preeclampsia de 24 a 36 semanas de gestación) fue un estudio prospectivo, multicéntrico, observacional diseñado para validar una relación de sFlt-1:PLGF sérica, predictiva de la ausencia o presencia de preeclampsia a corto plazo, en mujeres con embarazos únicos. Se validó el punto de corte en 38 para la relación sFlt-1: PIGF (con el uso de los inmunoensayos Elecsys sFlt-1 y PIGF), como un predictor útil a corto plazo de la ausencia de preeclampsia y de efectos adversos fetales en mujeres con síntomas, y los signos clínicos sugestivos del trastorno con un valor predictivo negativo en la cohorte de validación del 99,3% (IC del 95% 97,9 a 99,9). Un ratio por encima de 38, fue predictivo de la presencia de estos resultados a las 4 semanas, con un valor predictivo positivo en la cohorte de validación del 47,5% [IC del 95%, 38,4 a 56,8])(89).

Pero los estudios sobre la eficacia predictiva de la relación sFlt-1 / PIGF en el primer trimestre han arrojado resultados contradictorios. En una revisión, el ratio sFlt / PIGF, no mostró buenos resultados como marcador exclusivo para la predicción de la preeclampsia en el primer trimestre (196). Esto puede deberse a que las concentraciones de sFlt-1 en el primer trimestre son constantes durante todo el trimestre, y sus concentraciones no difieren con las de un embarazo normal en etapas tan precoces. Desde la perspectiva de cribado del primer trimestre de la PE, no se recomienda la utilidad del ratio sFlt-1/PIGF como marcador de riesgo precoz de PE, dada la contrariedad de resultados entre estudios (196).

✓ *PAPP-A*

PAPP-A es una metaloproteinasa, que participa en la función del factor de crecimiento tipo insulina y en procesos proliferativos locales. La proteína PAPP-A, tiene un significado importante en el embarazo y en algunas enfermedades gestacionales, aumentando con la edad gestacional. Se utiliza de rutina para el cribado combinado de cromosomopatías del primer trimestre, y su descenso durante el primer trimestre no sólo puede aumentar el riesgo de aneuploidías, sino que también puede predecir el riesgo de otros eventos adversos como la preeclampsia (197).

La mayoría de los estudios han evaluado la utilidad de PAPP-A en el primer trimestre, ya que al ser utilizado para el cribado del aneuploidías, hay una gran cantidad de datos disponibles. El primer estudio relevante sobre PAPP-A en el primer trimestre, fue publicado en 2002 sobre 8839 gestantes, donde las mujeres con niveles de PAPP-A por debajo del percentil 5, tenían mayor riesgo de PE (OR 2.3, IC 95%, 1.6-3.3) (198). Muchos estudios se han hecho tras éste confirmando el hallazgo. Pero en este parámetro, también hay variabilidad en cuanto a los resultados, y hay estudios donde no encuentran diferencias entre los dos grupos pero, al menos, ningún estudio ha descrito niveles superiores en el grupo de PE en el primer trimestre (197).

Cuando se usa como parámetro aislado, PAPP-A tiene una capacidad de detección baja, de aproximadamente un 20%, pero cuando se combina con otros factores maternos y marcadores biofísicos se alcanzan buenos rendimientos como prueba de cribado, con una tasa de detección para un 10% de falsos positivos del 92.5% para detectar casos de PE que requieran parto en <34 semanas, de 74.6% en los casos de PE que requiera parto con menos de 37 semanas y del 59.9% en mujeres con PE que precise parto hasta la semana 42 (189).

✓ β -hCG

La β -hCG humana es una glicoproteína que se expresa en trofoblasto y diversos tumores malignos. Aumenta exponencialmente desde el primer día de implantación, alcanzando un máximo entorno a la semana 12 de gestación, para disminuir durante el resto del embarazo. La β -hCG resulta imprescindible para la implantación y mantenimiento del blastocisto, y parece estar involucrado en muchos aspectos de la angiogénesis y la tolerancia inmune, lo que nos lleva a sugerir que su desregulación, podría conducir a complicaciones del embarazo, tales como la preeclampsia.

Junto a la PAPP-A, se utiliza en el cribado combinado para la detección de aneuploidías de forma rutinaria, por lo que también multitud de estudios han investigado sobre su utilidad en la preeclampsia gracias a la disponibilidad de datos existentes.

Los hallazgos de investigaciones previas, sugieren que niveles bajos de β -hCG en el primer trimestre y niveles altos en el segundo y tercer trimestres, están asociados con un mayor riesgo de preeclampsia. Sin embargo, los estudios que exploraron el valor de la β -HCG en la predicción de la PE, sugirieron una pobre contribución a la detección del riesgo, cuando se utiliza en el primer trimestre(188,199). En algunos estudios no se observan de forma

significativa diferencias en los pacientes que desarrollarán PE y los controles o por el contrario, incluso algunos detectan niveles séricos más reducidos (200). Dada esta controversia, no se recomienda por ahora usar este marcador en un programa de cribado precoz de la PE (71).

- **Minerales**

- ✓ *Magnesio*

El magnesio es un ion intracelular esencial y un cofactor importante para la activación de muchas enzimas. Tiene un papel importante en la regulación fisiopatológica de la presión sanguínea, ya que afecta a la contractilidad y el tono de los vasos sanguíneos. Los resultados de varios estudios han demostrado que las gestantes con diagnóstico establecido de preeclampsia, tienen niveles más bajos de este ion que las gestantes sanas.

Hay pocos estudios sobre los niveles de magnesio en etapas precoces, en función de si desarrollan o no PE. Un estudio evaluó los niveles de magnesio entre las semanas 18-22, y los niveles fueron menores en gestantes que más tarde desarrollaron PE, por lo que la hipomagnesemia puede ser una de las etiologías de la preeclampsia (201).

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. JUSTIFICACIÓN E HIPOTESIS

2.1.1. *Justificación*

Muchos de los cambios asociados a la patogenia de la preeclampsia preceden al establecimiento de la enfermedad clínica, lo cual ha motivado la continua búsqueda de marcadores clínicos, bioquímicos y ecográficos que reflejen esa variación sucedida en el entorno placentario y en la circulación materna. La utilidad de los biomarcadores en suero presenta grandes ventajas respecto al uso de otro tipo de variables predictoras de PE. Por un lado, son pruebas no invasivas, reproducibles y que muestran cambios en fases precoces de la PE, en muchos casos de forma previa a las alteraciones detectadas con otras técnicas, lo que permite una detección más precoz de la enfermedad. Todas estas razones convierten a los biomarcadores en candidatos ideales para la predicción y diagnóstico de la preeclampsia.

Desgraciadamente, ningún test reúne por el momento la suficiente sensibilidad y especificidad como para que pueda ser aplicado como método de cribado en la práctica obstétrica actual por sí solo. Debido a la importancia que representan los trastornos hipertensivos del embarazo, y en concreto la preeclampsia, debemos continuar investigando en este campo para mejorar predicción y diagnóstico. La aplicación de un método de cribado eficaz que permita seleccionar pacientes en riesgo sobre las que llevar una vigilancia más estrecha durante el embarazo y el uso de una profilaxis eficaz, por ejemplo con aspirina, podría prevenir la aparición de esta enfermedad.

En este trabajo analizamos los valores de varios biomarcadores implicados en la fisiopatología de la enfermedad en los tres trimestres de embarazo en una población de mujeres gestantes en riesgo de preeclampsia según el cribado combinado propuesto por *Akolekar y cols* (191). Los marcadores bioquímicos a estudio son: sFlt-1, PlGF, PAPP-A, β -HCG, TAS, homocisteína, ácido úrico, glucosa, albúmina, proteínas, hierro, ferritina, transferrina, bilirrubina total, ALT, AST, LDH, colesterol total y sus fracciones, triglicéridos, lipoproteína (a), proteína C reactiva, IL-6, creatinina, cistatina C, filtrado glomerular, urea, Leptina, TSH, calcio y magnesio. Son biomarcadores que tienen un uso extendido en otras patologías y valoraremos las diferencias de las determinaciones de estos marcadores bioquímicos en los tres trimestres, en mujeres sanas y en mujeres que desarrollan preeclampsia, demostrando qué marcadores podrían utilizarse como marcadores precoces de esta enfermedad en este grupo de población. Además

analizamos la efectividad del tratamiento con aspirina en mujeres de riesgo de preeclampsia así como el posible efecto de la aspirina en la expresión de los biomarcadores en función del tratamiento con aspirina o con placebo.

Así mismo, analizamos las características físicas, epidemiológicas y clínicas de las gestantes con diagnóstico de preeclampsia y lo comparamos con las gestantes sanas. Todo ello orientado a mejorar el diagnóstico precoz, permitiendo predecir qué gestantes tienen riesgo de desarrollar preeclampsia para mejorar los resultados perinatales y maternos.

2.1.2. Hipótesis

Predecir la preeclampsia es un reto mayor en la obstetricia contemporánea.

Este estudio nos permitirá describir las características materno-fetales así como tratará de identificar biomarcadores que puedan predecir los embarazos complicados por preeclampsia con el fin de crear un modelo predictivo que seleccione grupos de riesgo sobre los que llevar un seguimiento del embarazo más estrecho y que puedan beneficiarse de la adopción de medidas preventivas oportunas.

Además, se valorará la eficacia del tratamiento con aspirina en mujeres de alto riesgo de preeclampsia, según el modelo de cribado de *Akolekar y cols.*, y analizaremos qué marcadores son modulados por el tratamiento con este fármaco, dando una explicación fisiológica sobre la disminución del riesgo de preeclampsia en mujeres tratadas con aspirina.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. Objetivo general

El objetivo de este estudio es evaluar la utilidad clínica de los biomarcadores sFlt-1, PlGF, PAPP-A, β -HCG, TAS, homocisteína, ácido úrico, glucosa, albúmina, proteínas, hierro, ferritina, transferrina, bilirrubina total, ALT, AST, LDH, colesterol total y sus fracciones, triglicéridos, lipoproteína (a), proteína C reactiva, IL-6, creatinina, cistatina C, filtrado glomerular, urea, leptina, TSH, calcio y magnesio de forma individual y combinados mediante el diseño de

algoritmos predictivos, en los tres trimestres de gestación con el fin de predecir la preeclampsia.

2.2.2. *Objetivos específicos*

1. Describir y analizar las características físicas, epidemiológicas y bioquímicas de las pacientes incluidas en el estudio y de cada uno de los grupos de estudio.
 - 1.1. Analizar la prevalencia de preeclampsia.
 - 1.2. Analizar la influencia de los factores de riesgo epidemiológicos para su desarrollo.
 - 1.3. Analizar los resultados perinatales y los datos del parto en las gestaciones que desarrollan preeclampsia y las que no la desarrollan, y en función de la toma de aspirina versus placebo.
2. Determinar el valor de los biomarcadores a estudio en los tres trimestres de gestación.
 - 2.1. Evaluar el rendimiento de los estos marcadores predictores de PE en gestantes con riesgo de PE.
 - 2.2. Conocer la relación de dependencia entre los distintos marcadores de PE y con las variables clínicas maternas.
3. Diseñar un modelo de predicción de riesgo de PE con biomarcadores y variables clínicas para cada trimestre de gestación.
 - 3.1. Determinar cuáles son las combinaciones de marcadores más eficientes para la predicción de PE, y conocer su exactitud diagnóstica en un grupo de gestantes de alto riesgo *a priori* para el desarrollo de este síndrome.
4. Evaluar la expresión de los biomarcadores en el grupo de pacientes tratadas con aspirina en comparación con aquellas que tomaron placebo.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

La presente tesis doctoral se trata de un estudio prospectivo descriptivo y analítico realizado sobre la base de un ensayo clínico llevado a cabo en el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia (HCUVA), que se ha desarrollado en el marco de un proyecto de investigación multicéntrico de dos años de duración (Noviembre/2014 - Noviembre/2016) con el nombre de “Combined multi-marker screening and randomised patient treatment with aspirin for evidence based pre-eclampsia prevention. ASPRE”, financiado por los fondos Europeos de Investigación sanitaria a través del Séptimo Programa Marco de Investigación y Desarrollo Tecnológico. El ensayo clínico fue registrado en www.ClinicalTrials.gov con el número NCT02301780. Se trata de un ensayo clínico controlado aleatorizado doble ciego con dos brazos de tratamiento mediante asignación aleatoria y con evaluación ciega de la variable respuesta, que examinó el efecto del uso profiláctico de la aspirina en dosis bajas tomado desde el primer trimestre del embarazo en mujeres con alto riesgo de PE, sobre la incidencia y gravedad de la enfermedad.

Las pacientes se reclutaron en el periodo comprendido desde Septiembre de 2015 a Octubre de 2016 y posteriormente se llevó a cabo la recogida de datos, el procesamiento de las muestras, las determinaciones analíticas y el análisis de los resultados.

3.2. PACIENTES

3.2.1. Selección de la población de estudio

Todas las mujeres sometidas al cribado de aneuploidias, que se realiza en la primera exploración de rutina del embarazo entre las semanas 11 y 13, fueron invitadas a participar en el estudio. A las mujeres que aceptaron contribuir en el ensayo, después de firmar el pertinente consentimiento informado, se les midió su PAM, se realizó una eco-Doppler a color transabdominal para visualizar las arterias uterinas y se determinaron los biomarcadores PIGF y PAPP-A, en la misma muestra de suero tomada como parte de la rutina del screening de aneuploidías. Con estos datos se calculó el riesgo de PE pretérmino mediante el modelo combinado propuesto por *Akolekar y cols* (189). Las mujeres de alto riesgo de PE pretérmino

fueron asignadas al azar según un código de asignación que determinó quién recibió placebo o aspirina a dosis de 150 mg.

- **Población de estudio**

Se incluyeron en este estudio 119 pacientes clasificadas como de alto riesgo de preeclampsia, que aceptaron participar en el ensayo clínico ASPRE. Se establecieron unos criterios de inclusión y exclusión para la invitación al estudio que se especifican a continuación.

- ✓ *Criterios de inclusión*

Fueron incluidos todas las mujeres embarazadas que cumplían con los siguientes criterios:

- Edad superior a 18 años.
- Embarazos únicos.
- Feto vivo a las 11-13 semanas de gestación.
- Alto riesgo de preeclampsia a las 11-13 semanas. Se consideraron gestantes de alto riesgo de preeclampsia, las que dieron elevado riesgo por el algoritmo propuesto por *Akolekar y cols* (189) que combina historia y características maternas, hallazgos biofísicos (PAM e IP AUt) y marcadores bioquímicos (PAPP-A y PIGF).
- Habla español o Inglés.
- Pacientes que accedieron a participar en el presente estudio por medio de la firma de un consentimiento informado escrito.

- ✓ *Criterio de exclusión*

Quedaron excluidos del estudio aquellos pacientes que cumplían alguna de las siguientes características:

- Edad inferior a 18 años.
- Embarazo múltiple.
- Mujeres que toman dosis bajas de aspirina regularmente.
- Embarazos complicados por anomalías fetales importantes identificados en la evaluación de 11-13 semanas.
- Mujeres inconscientes o gravemente enfermas.
- Dificultad de aprendizaje o enfermedad mental grave.
- Trastornos hemorrágicos como la enfermedad de Von Willebrand.

- Úlcera péptica.
- Hipersensibilidad a la aspirina o a antiinflamatorios no esteroídicos (AINES).
- Participación concurrente en otro ensayo clínico dentro de los 28 días previos.
- Cualquier otra razón que hiciera pensar a los investigadores clínicos que era un impedimento para que el participante cumpliera con el protocolo del ensayo.

3.2.2. Intervención

La selección de los pacientes se hizo de forma consecutiva, y a cada participante se le asignó un número de participación de acuerdo con un código de asignación al azar, que determinó si recibía placebo o el medicamento en investigación (Aspirina 150 mg). La asignación aleatoria a los grupos de estudio se realizó con el procedimiento de asignación por bloques generada por Hananja S.A, con el fin de obtener dos grupos de tamaño equivalente. Todos los participantes, el investigador principal y la sección ensayos clínicos (EECC) de farmacia hospitalaria del HCUVA, permanecieron ciegos a la asignación de fármacos de ensayo mientras que el proveedor de los medicamentos en investigación (Mawdsley Brooks y Co.) mantuvo la lista de códigos de asignación.

Se informó sobre cómo tomar los comprimidos: debían tragarlo entero cada noche hasta la semana 36, o en caso de parto prematuro debían dejarlo al inicio del parto (duración máxima del tratamiento: 25 semanas). Además se les indicó que no debían tomar a parte más aspirina u otros AINES durante todo el estudio.

Los comprimidos de fármaco y de placebo eran idénticos en cuanto al tamaño, grosor, propiedades físicas y apariencia. Para igualar la estética y sabor, se recubrieron mediante una película protectora. Además, todos los envases fueron etiquetados con un mensaje aprobado en el que se leía "contiene 150 mg de aspirina o placebo".

- Fármaco de Intervención: Sustancia activa, 150 mg de ácido acetilsalicílico (C₉H₈O₄, número CAS 50-78-2), que presenta la siguientes estructura:

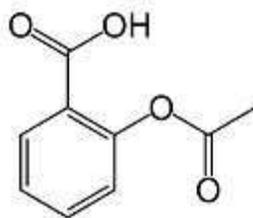


Figura 8.Ácido acetil salicílico

- Placebo: El comprimido de aspecto idéntico al del fármaco de intervención.

3.2.3. Seguimiento y recogida de información

- **Seguimiento**

Se ha realizado un seguimiento uniforme para todos los miembros del estudio desde visita de screening, en la semana 11-13 de gestación, hasta el parto. Durante este periodo se programaron una serie de visitas y entrevistas telefónicas que a continuación se detallan:

- ✓ *Visita de screening (11-13 semanas o CRL 45-84mm)*

En esta visita se informó sobre el estudio y se recogió el consentimiento informado de las pacientes que deseaban participar, así como sus datos demográficos, ecografía del primer trimestre, evaluación del riesgo de PE, altura, peso, IMC, historia materna y familiar de preeclampsia. Se determinó la PAM y el flujo sanguíneo de la arteria uterina (ecografía Doppler a color transabdominal) y además, se tomó una muestra de sangre de 20 mL para mediciones de β -hCG, PAPP-A y PlGF. El resto de suero se almacenó en congelador de -80°C para nuestro estudio.

- ✓ *Visita de aleatorización (11-14 semanas)*

Una vez interrogada sobre si tomaba medicación concomitante se aleatorizó a las pacientes a la toma de AAS o placebo y se les dio el primer envase de tratamiento.

- ✓ *Entrevista telefónica 1 (16 semanas)*

En esta entrevista se recabó información sobre medicación concomitante, grado de cumplimiento del tratamiento y posibles efectos adversos, o efectos secundarios que se pudieran asociar a la toma del fármaco.

✓ *Visita de seguimiento 1 (20-24 semanas)*

Se les hizo una ecografía de rutina para valorar posibles anomalías, se determinó la PAM y el flujo sanguíneo de la arteria uterina (ecografía Doppler a color transabdominal), y se recabó información sobre el grado de cumplimiento del tratamiento, medicación concomitante, y aparición de posibles efectos adversos o efectos secundarios. Además, se tomó una muestra de sangre de 20 mL para mediciones de PAPP-A y PIGF. El resto de suero se almacenó en congelador de -80°C para nuestro estudio.

✓ *Entrevista telefónica 2 (28 semanas)*

En este momento se preguntó sobre la toma de medicación concomitante, sobre el grado de cumplimiento del tratamiento, y sobre posibles efectos adversos o efectos secundarios que asociaran a la toma del fármaco.

✓ *Visita de seguimiento 2 (32-34 semanas)*

En esta segunda visita de seguimiento se realizó una ecografía de rutina para valorar el crecimiento fetal, se determinó la PAM y el flujo sanguíneo de la arteria uterina (ecografía Doppler a color transabdominal), y se recabó información sobre el grado de cumplimiento del tratamiento, la toma de medicación concomitante, y la posible aparición de efectos adversos o efectos secundarios. Además, se tomó una muestra de sangre de 20 mL para mediciones de PAPP-A y PIGF, y el resto de suero se almacenó en congelador de -80°C para nuestro estudio.

✓ *Visita de seguimiento 3 (36 semanas)*

Se realizó una ecografía para valorar el crecimiento fetal, se determinó la PAM y el flujo sanguíneo de la arteria uterina (ecografía Doppler color transabdominal), mediciones de PAPP-A y PIGF, se valoró el grado de adhesión al tratamiento, la toma de medicación concomitante y se anotaron los posibles efectos adversos o efectos secundarios. En esta visita se indicó que debían detener la toma del fármaco.

✓ *Entrevista telefónica 3 (30 días después de la última dosis)*

A todos los participantes se les preguntó sobre posibles efectos adversos desde la última visita, ya que el período para la notificación de efectos adversos, fue desde que tomaron la primera dosis hasta 30 días después del final del tratamiento.

Para valorar la adherencia al tratamiento, se les pidió a las pacientes que trajeran el envase con la medicación en cada visita médica. En las mismas se les preguntó sobre la toma simultánea de otros medicamentos, aconsejando siempre no tomar compuestos con aspirina y otros AINES.

El esquema del seguimiento con las entrevistas, visitas y toma de muestras se recoge en la Figura 9.

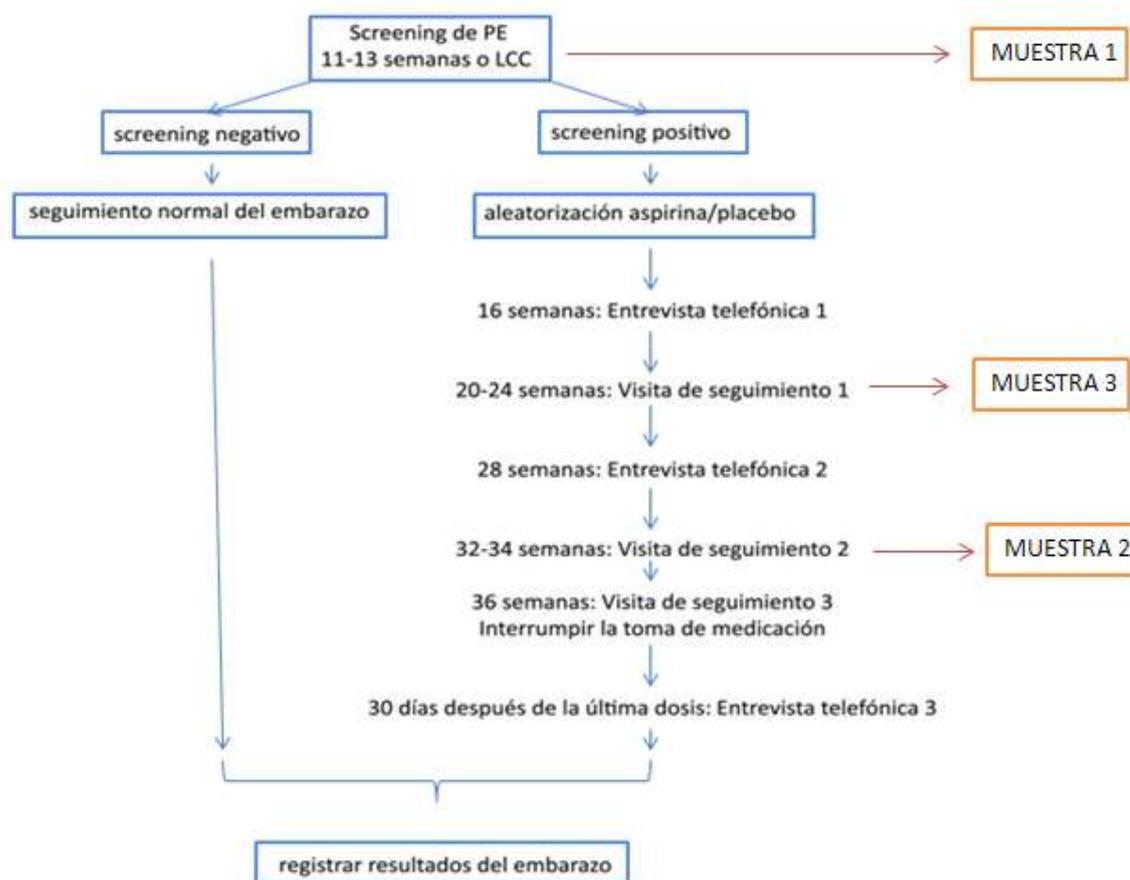


Figura 9. Seguimiento y toma de muestras de las pacientes incluidas en el estudio.

- **Recogida de información**

Los datos de seguimiento fueron recogidos en el programa de recogida de datos ViewPoint (GE Healthcare GmbH. Germany), donde se registraron las variables de cada una de las evaluaciones. Los resultados de los parámetros hematológicos, de coagulación y bioquímicos fueron obtenidos del sistema informático del laboratorio de Análisis Clínicos (AACC) del HCUVA

(Modulab, Werfen) de sus analíticas correspondientes al primer, segundo y tercer trimestres de gestación, analíticas que se realizan de rutina en el seguimiento normal de la gestante establecidas en el Programa PIAM (Programa integral de atención a la mujer de la Región de Murcia) (202).

3.2.4. Grupos de estudio

La población total incluida en el estudio fue de 119 gestantes de alto riesgo de preeclampsia, que dividimos en función de si tomaron aspirina o placebo, y en función de si desarrollaron o no preeclampsia.

- ✓ **Grupo 1:** gestantes de alto riesgo de PE que SÍ desarrollaron PE.
 - **Grupo 1a:** gestantes de alto riesgo de PE que desarrollaron PE tratadas con aspirina.
 - **Grupo 1b:** gestantes de alto riesgo de PE que desarrollaron PE tratadas con placebo.
- ✓ **Grupo 2:** gestantes de alto riesgo de PE que NO desarrollaron PE.
 - **Grupo 1a:** gestantes de alto riesgo de PE que no desarrollaron PE tratadas con aspirina.
 - **Grupo 1b:** gestantes de alto riesgo de PE que no desarrollaron PE tratadas con placebo.

Dentro de las que sufrieron preeclampsia también se diferenció entre la PE de forma precoz y la tardía.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. Parámetros de estudio

Los parámetros de estudio incluidos en esta tesis doctoral incluyeron parámetros de laboratorio y variables clínicas tanto maternas como neonatales.

- **Variables clínicas**

Se recogieron las siguientes variables de las historias clínicas de cada paciente:

✓ **Datos maternos**

- Datos epidemiológicos
 - Edad (años)
 - Peso (Kg), talla (m), IMC (Kg/m²)
 - Fumadora
 - Consumo de alcohol u otras drogas
 - Antecedentes familiares de preeclampsia
 - Nuliparidad
 - Embarazo mediante técnicas de reproducción asistida.
 - Etnia
- Comorbilidades:
 - Hipertensión arterial
 - Diabetes
 - Hipotiroidismo
 - ERC
- Datos clínicos:
 - Riesgo de preeclampsia
 - Toma de aspirina o placebo
 - Índice de pulsatilidad de las arterias uterinas (IP AUt)
 - Edad gestacional en el momento del parto
 - Parto vaginal o cesárea
 - Toma de otros fármacos
 - Desarrollo de complicaciones como desprendimiento de placenta, CIR.
 - Desarrollo de preeclampsia: si/no
 - Semana de aparición de la preeclampsia
 - Datos de tensión arterial al inicio del cuadro
 - Proteinuria, hemoglobina, recuento de plaquetas, urea, creatinina, AT, ALT, INR al inicio del cuadro
 - otras complicaciones como desarrollo de eclampsia

✓ **Datos neonatales**

- Sexo
- Peso al nacer
- Apgar 1,5 y 10 minutos

- Desarrollo de complicaciones
- Ingreso en UCI neo.
- Estancia en UCI neo.

- **Definiciones clínicas**

La confirmación de los diagnósticos se realizó mediante revisión de las historias clínicas de las pacientes. Para establecer las definiciones clínicas se siguieron las recomendaciones del *American College of Obstetricians and Gynecologists* vigentes en el momento de inicio del estudio (29). Los criterios de clasificación y diagnóstico de los trastornos hipertensos en el embarazo utilizado en el estudio fueron los siguientes:

- ✓ **Hipertensión:** PA sistólica ≥ 140 mmHg y/o PA diastólica ≥ 90 mmHg (en dos ocasiones con un intervalo ≥ 4 horas)
- ✓ **Hipertensión crónica:** hipertensión diagnosticada antes del embarazo o en la primera mitad del embarazo (<20 semanas de gestación) y que continúe durante > 12 semanas después del parto.
- ✓ **Proteinuria:** análisis de proteínas en orina de 24 horas $\geq 0,3$ g proteínas/ 24 horas o en caso de emergencia un ratio proteína/creatinina ≥ 30 mg proteína/mmol creatinina o tira reactiva con $\geq 2+$.
- ✓ **Hipertensión gestacional:** aparición “de novo” de hipertensión sola sin proteinuria después de 20 semanas de gestación.
- ✓ **Preeclampsia:** La preeclampsia en el estudio ASPRE quedó definida según la Sociedad Internacional para el Estudio de la Hipertensión durante el Embarazo que basa el diagnóstico de PE en la aparición de hipertensión y proteinuria (203).
- ✓ **Eclampsia:** aparición de convulsiones tónico-clónicas en mujeres con preeclampsia que no se pueden asignar a ninguna otra causa.
- ✓ **Preeclampsia precoz y tardía**
 - PE precoz: aparición de la enfermedad $<34+0$ semanas de gestación.
 - PE tardía: aparición de la enfermedad $\geq 34+0$ semanas de gestación.
- ✓ **Preeclampsia pretérmino y a término**
 - PE pretérmino: preeclampsia con parto antes de $37+0$ semanas de gestación.
 - PE a término: preeclampsia con parto posterior a $37+0$ semanas de gestación.
- ✓ **Síndrome de HELLP:** aumento de las enzimas hepáticas, de las concentraciones de lactato deshidrogenasa (LDH) y reducción de la cifra de plaquetas ($<100.000/\mu\text{L}$).

- ✓ **Parto pretérmino:** nacimiento antes de la finalización de las 37 semanas de gestación.
- ✓ **Feto pequeño para la edad gestacional:** PFE < percentil 10.
- ✓ **CIR:** peso fetal estimado (PFE) o circunferencia abdominal < percentil 3 (ajustado por sexo y raza).

- **Parámetros de laboratorio**

Algunas variables de laboratorio fueron determinadas ex profeso para el estudio de la presente tesis, y otros pertenecían a analíticas de rutina incluidas en el programa PIAM de la Región de Murcia, por lo que fueron recogidos de sus historias clínicas.

- ✓ **Marcadores rutinarios: Parámetros recogidos de la historia clínica de las pacientes.**
 - Hemograma del 1º, 2º y 3º trimestres de gestación: hemoglobina (g/dL), hematocrito (%), volumen corpuscular medio (fL), recuento de plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$), recuento de leucocitos totales ($\times 10^3/\mu\text{L}$), recuento de neutrófilos ($\times 10^3/\mu\text{L}$), porcentaje de neutrófilos (%), recuento de linfocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$), porcentaje de linfocitos (%), recuento de monocitos ($\times 10^3/\mu\text{L}$), porcentaje de monocitos (%).
 - Análisis de orina del 1º, 2º y 3º trimestres: muestra simultánea de orina para la determinación de anormales y sedimento.
 - β -HCG y PAPP-A del cribado de aneuploidías del primer trimestre.
 - Coagulación del 3º T: actividad de protrombina (%), razón internacional normalizada (INR), ratio de tromboplastina parcial activada (TTPAr), y fibrinógeno (mg/dL).
- ✓ **Marcadores no rutinarios: parámetros analizados para este estudio .**
 - Bioquímica general: glucosa (mg/dL), proteínas totales (g/dL), albúmina (g/dL).
 - Pruebas de función hepática: bilirrubina (mg/dL), ALT (UI/L), AST (UI/L), ALP (UI/L), GGT (UI/L), LDH (UI/L).
 - Marcadores de inflamación: PCR (mg/dL), IL-6 (pg/mL).
 - Marcadores reguladores de la angiogénesis: PlGF (pg/mL), s-Flt (pg/mL), ratio sFlt-1:PlGF.
 - Marcadores placentarios: PAPP-A (mUI/mL) y β -hCG ($\mu\text{g/mL}$).
 - Función renal y preeclampsia: urea (mg/dL), creatinina (mg/dL), cistatina (mg/L) y FG estimado.

- Marcadores de dislipemia: colesterol total (mg/dL), colesterol HDL (mg/dL), colesterol LDL (mg/dL), triglicéridos (mg/dL), lipoproteína (a) (mg/dL).
- Marcadores de estrés oxidativo: capacidad antioxidante total del suero (mmol/L), ácido úrico (mg/dL), homocisteína ($\mu\text{mol/L}$).
- Marcadores de regulación de la función endocrina: leptina (ng/mL), TSH ($\mu\text{IU/mL}$).
- Minerales: calcio (mg/dL), magnesio (mg/dL).

3.3.1. *Recogida y procesamiento de muestras*

- **Recogida de las muestras**

Las extracciones fueron obtenidas entre las 7 y las 10 de la mañana (para evitar la variación circadiana), mediante el sistema Vacutainer (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ). Se recogió en cada extracción un tubo de sangre de 5mL sin anticoagulante con gel separador para la obtención de suero.

Los tubos sin anticoagulante se dejaron reposar a temperatura ambiente para la retracción del coágulo de fibrina, y posteriormente se centrifugaron a 4 °C a 3500 g durante 10 minutos. Una parte del suero obtenido se utilizó para la medición de PAPP-A, β -HCG libre y PIGF en sistemas automatizados (DELFIA Xpress, PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Waltham, EE.UU), como parámetros del propio ensayo clínico, y el resto fue inmediatamente fraccionado en varias alícuotas que fueron congeladas a -80°C en el Servicio de AACC del HCUVA.

Una vez finalizado el proceso de recolección de las muestras, se descongelaron tres alícuotas por tiempos:

- Alícuota 1: para la determinación de parámetros bioquímicos medidos en Cobas 8000 (Roche Diagnostic®)
- Alícuota 2, para la determinación de Lp(a), CysC y Hcy en el BN ProSpec (Siemens Healthcare Diagnostics®)
- Alícuota 3: para la determinación de sFLT-1, PIGF e IL-6 en Cobas e411 (Roche Diagnostic®)

El objetivo de separar en varias alícuotas, fue para evitar la pérdida o degradación de los biomarcadores que se iban a medir, ya que así se sometieron a un solo ciclo de congelación-descongelación. El tiempo de almacenamiento previo al análisis fue variable pero siempre

inferior a 18 meses. La descongelación se realizó a 37°C, invirtiendo el contenedor varias veces para asegurar la homogeneidad de la muestra. Antes del procesamiento de las muestras se comprobó la ausencia de restos de fibrina, en cuyo caso se realizó una nueva centrifugación.

- **Procesamiento analítico de las muestras**

Los parámetros bioquímicos estudiados en esta tesis fueron analizados en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, mientras que el hemograma y la coagulación se realizaron en el Servicio de Hematología del mismo Hospital, por lo que no se incluyen en este apartado.

Para el análisis bioquímico se utilizaron cuatro analizadores automatizados, el Cobas 8000 (Roche Diagnostic®), el BN ProSpec (Siemens Healthcare Diagnostics®), el Cobas e411 (Roche Diagnostic®) y el AutoDELFIA (PerkinElmer®). Los parámetros determinados en cada equipo, así como el principio analítico utilizado se detallan a continuación.

- ✓ *Cobas 8000 (Roche Diagnostic®)*

En esta plataforma analítica modular se llevaron a cabo las determinaciones de glucosa, urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, bilirrubina total, hierro, ferritina, transferrina, colesterol, colesterol HDL y LDL, triglicéridos, AST, ALT, GGT, ALP, LDH, ácido úrico, PCR, β -HCG, PAPP-A (para el cribado de aneuploidías) y TSH. Para cada una de ellas se utilizaron los siguientes métodos:

Mediante un test cinético se determinaron la glucosa, urea, AST, ALT y LDH donde la velocidad de formación de NADPH, medida fotométricamente es proporcional (directa o indirectamente) a la concentración del analito.

Para la determinación de triglicéridos, HDL-colesterol, colesterol, GGT y hierro se empleó un test enzimático colorimétrico, donde la intensidad colorimétrica del complejo formado es directamente proporcional a la concentración de éstos, siendo medido fotométricamente.

En cuanto a la creatinina, albúmina, bilirrubina, proteínas totales y fosfatasa alcalina, se determinaron mediante un método cinético colorimétrico, donde la intensidad cromática o el incremento de absorbancia, son proporcionales a la concentración de éstos y se miden fotométricamente.

Para la proteína C reactiva (PCR), transferrina, se empleó un test inmunturbidimétrico potenciado por partículas. La PCR del suero se aglutina con las partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales anti-PCR, y el precipitado se determina por turbidimetría.

Para la determinación de TSH, β-HCG, PAPP-A y ferritina se emplearon inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA) que se explica a continuación.

- *Estimación de la función renal*

A pesar de que el aclaramiento de creatinina con orina de 24 h es la forma más recomendada de medir la función renal en mujeres embarazadas, con el fin de evitar mayores trastornos a la gestante, se ha determinado el filtrado glomerular estimado mediante ecuaciones que lo estiman a partir de la creatinina y cistatina C sérica, así como algunas variables demográficas y antropométricas (edad, sexo, talla, etnia).

En esta tesis elegimos la fórmula CKD-EPI (Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration group) para estimar el FG a partir de la creatinina sérica y la CKD-EPI_{2012 cys} para estimarlo a partir de cistatina C.

Hay varias ecuaciones en función de la etnia, sexo y los niveles de creatinina y por su parte, cada fórmula tiene en cuenta el valor de creatinina y la edad.

Tabla 3. Fórmulas CKD-EPI a partir de creatinina

ETNIA	SEXO	CREATININA	FILTRADO FLOMERULAR ESTIMADO
Blanca	Mujeres	≤ 0.7mg/dL	$FGe = 144 \times (creatinina/0.7)^{-0,329} \times (0,993)^{edad}$
		> 0.7mg/dL	$FGe = 144 \times (creatinina/0.7)^{-1,209} \times (0,993)^{edad}$
	Hombres	≤ 0.9 mg/dL	$FGe = 141 \times (creatinina/0.9)^{-0,411} \times (0,993)^{edad}$
		> 0.9 mg/dL	$FGe = 141 \times (creatinina/0.9)^{-1,209} \times (0,993)^{edad}$
Negra	Mujeres	≤ 0.7mg/dL	$FGe = 166 \times (creatinina/0.7)^{-0,329} \times (0,993)^{edad}$
		> 0.7mg/dL	$FGe = 166 \times (creatinina/0.7)^{-1,209} \times (0,993)^{edad}$
	Hombres	≤ 0.9 mg/dL	$FGe = 163 \times (creatinina/0.9)^{-0,411} \times (0,993)^{edad}$
		> 0.9 mg/dL	$FGe = 163 \times (creatinina/0.9)^{-1,209} \times (0,993)^{edad}$

FG estimado a partir de la cistatina C se calculó a través de las fórmulas que se muestran:

Tabla 4. Fórmulas CKD-EPI 2012 cys

SEXO	CISTATINA C	FILTRADO FLOMERULAR ESTIMADO
Mujeres	≤ 0.8mg/dL	$FGe = 133x (CysC/0.8)^{-0.499}$
	> 0.8mg/dL	$FGe = 133x (CysC/0.8)^{-1.328} \times 0.996^{edad}$
Hombres	≤ 0.8 mg/dL	$FGe = 133x (CysC/0.8)^{-0.499} \times 0.996^{edad}$
	> 0.8 mg/dL	$FGe = 133x (CysC/0.8)^{-1.328} \times 0.996^{edad}$

✓ *COBAS e 411 (Roche Diagnostics®)*

IL-6, sFlt-1, PlGF se determinaron mediante electroquimioluminiscencia (ECLIA). ECLIA es una tecnología que combina la reacción convencional antígeno-anticuerp (tipo sándwich) en la superficie de una micropartícula magnética, con la reacción electroquímica sobre la superficie de un electrodo para generar luminiscencia. Esa luminiscencia se basa en la interacción entre quelato de rutenio y tripropilamina (TPA) sobre la superficie de un electrodo de platino.

En una primera fase, se produce la incubación con un anticuerpo anti-analito marcado con biotina y un anticuerpo anti-analito marcado con quelato de rutenio, donde éstos forman con el analito un sándwich. En una segunda incubación, partículas recubiertas de estreptavidina se unen a la biotina. La mezcla de reacción se traslada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas magnéticas recubiertas con estreptavidina se fijan temporalmente a la superficie del electrodo y los elementos no fijados se eliminan. Al aplicar una corriente eléctrica concreta se produce la reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.

La reacción quimioluminiscente tiene lugar debido a dos reacciones de oxidación iniciadas simultáneamente, tanto para el rutenio como para la TPA. La TPA se descompone electroquímicamente tras la oxidación del complejo de rutenio con el resultado neto de la emisión de un fotón. La reacción regenera el complejo de rutenio que puede producir múltiples ciclos durante la fase de medida.

Para desencadenar la reacción ECLIA sólo se requiere una simple excitación eléctrica. Las reacciones quimioluminiscentes que llevan a la emisión de luz a partir del marcador de rutenio, son activadas eléctricamente por aplicación de un voltaje a la mezcla de reacción. El producto final de la reacción se forma en la misma fase de medida. La emisión de luz se mide con un fotomultiplicador situado por encima de la célula de excitación.

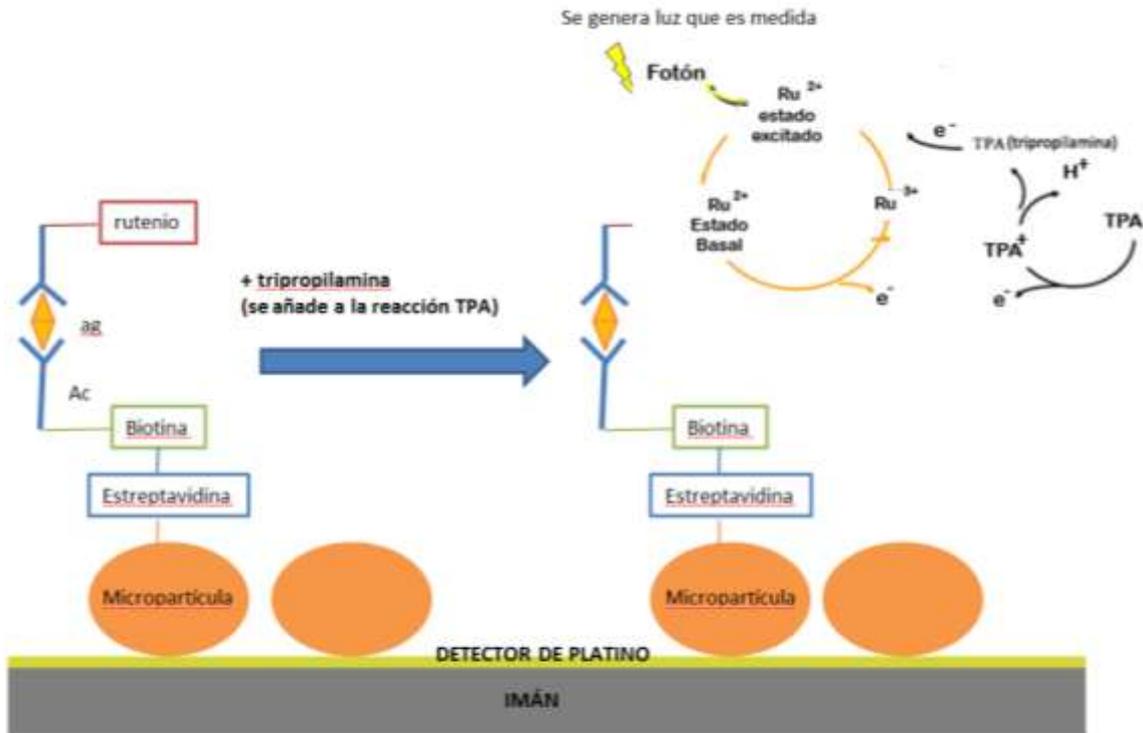


Figura 10. Esquema de la reacción electroquimioluminiscente.

Además el sistema estreptavidina-biotina proporciona una inmunoreactividad alta y constante de los antígenos y anticuerpos fijados, ya que el gran número de puntos de unión de biotina en la fase sólida garantiza una alta capacidad de fijación de los componentes biotinilados.

✓ *BN ProSpec (Siemens Healthcare Diagnostics®)*

En este autoanalizador compacto se llevaron a cabo las determinaciones de lipoproteína (a), homocisteína y cistatina C. En los tres casos, la medida se realizó por inmunonefelometría, método por el cual mediante la adición de anticuerpos específicos contra el analito que se desea cuantificar, se produce la formación de inmunocomplejos. En este caso se utilizan antiseros líquidos de origen animal producidos mediante la inmunización de conejos con Cys C, Lp(a) y Hcy humanas altamente purificadas, y al adicionarlos a la muestra del paciente se forman los correspondientes inmunocomplejos. Si se aplica un haz de luz con una longitud de onda de 840 nanómetros a través de la cubeta que contiene estos complejos, se produce la dispersión de la misma siendo medida la cantidad de luz dispersada por los complejos, que será proporcional a la concentración del analito.

✓ DELFIA® Xpress (PerkinElmer)

El Delfia® Xpress es un analizador de enzimoimmunoensayo que utiliza el europio como marcador fluorescente específico y que permite la determinación de los parámetros empleados en el cribado de aneuploidías y cribado de preeclampsia.

La determinación de β -HCG, PAPP-A y PIGF, se realizó mediante un ensayo inmunofluorimétrico de doble marcaje en fase sólida, basado en la técnica directa del sándwich, con un anticuerpo monoclonal marcado con europio fluorescente. Se mide la fluorescencia de cada pocillo, siendo ésta proporcional a la concentración del analito.

3.3.2. Análisis estadístico

Los valores de los diversos marcadores de PE estudiados se expresaron en múltiplos de la mediana (MoM). El Multiplo de la Mediana (MoM) se obtiene dividiendo el valor del marcador por la mediana propia del centro para ese marcador y para la edad gestacional de la embarazada:

$$MoM = \frac{\text{medida}}{\text{mediana}}$$

En las determinaciones bioquímicas es necesario hacer ajustes para las medidas de algunos biomarcadores como β -HCG y PAPP-A, en función de determinadas características maternas y gestacionales. Los MoM de PAPP-A y β -hCG fueron ajustados por el LCR, edad materna, IMC, raza, hábito tabáquico, antecedente de diabetes mellitus, método de concepción. En el caso del resto de parámetros bioquímicos no existen métodos previamente descritos que sean aplicables para el cálculo de los MoM ajustados. Por ello, se realizó una transformación logarítmica en las gestantes no afectas de PE para conseguir su adecuación a una curva gaussiana y posteriormente se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple para determinar qué variables eran predictores significativos de los valores de estos marcadores. Tan sólo PIGF, en el primer trimestre, mostró ser dependiente a la edad de la mujer resultando la fórmula que se expone:

$$\log PLGF\ 1T = 1.032 + 0.010 \times \text{edad materna} \quad R^2=0,051 \quad p=0,026$$

Por último, se aplicaron las fórmulas derivadas de este análisis para calcular los valores esperados en cada gestante y así poder expresar los valores observados como MoM ajustadas mediante la división entre el valor observado y el valor esperado.

$$MoM \text{ ajustado} = \frac{MoM \text{ observado}}{MoM \text{ esperado}}$$

Una vez se tuvieron todos los biomarcadores en sus unidades adecuadas se comprobó la distribución normal de las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Las variables continuas fueron representadas como media y desviación estándar (DE), y las variables que no mostraron una distribución normal se representaron como la mediana y rango intercuartílico (RI). Las variables cualitativas se expresaron como frecuencia absoluta y frecuencia relativa en porcentajes.

Se realizó un análisis univariante en el que para comparar medias se aplicó, en el caso de variables con distribución normal, el test paramétrico t- de Student y el test de Anova. Para el estudio de variables que no seguían distribución normal, se aplicó los test no paramétricos de U-Mann Whitney y H de Kruskal-Wallis. La comparación de variables discretas se llevó a cabo a través de la prueba de χ^2 o la prueba exacta de Fisher, según correspondiera.

La relación lineal existente entre variables cuantitativas, se estudió mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r) o de Spearman (ρ), según siguieran o no, una distribución normal.

El papel de un biomarcador en la predicción de un evento se analiza mediante estadísticos multivariantes: regresión logística, cuando la variable resultado es dicotómica. La función logística diseñada estima la probabilidad de que acontezca el suceso que hayamos codificado como 1 en la variable dependiente, que en nuestro caso fue haber desarrollado preeclampsia. Como variables explicativas usamos variables maternas y variables bioquímicas tanto cuali como cuantitativas.

Como criterio para elegir las variables que se incluirían en el análisis, se decidió estudiar todas variables estadísticamente significativas en el análisis univariado. Para la resolución del modelo y determinación de los coeficientes asociados a las variables, seguimos los siguientes criterios para cerciorarnos de conseguir un modelo de calidad. Por una lado valoramos el -2 log de la verosimilitud (-2LL), que indica hasta qué punto un modelo se ajusta bien a los datos. El resultado de esta medición recibe también el nombre de “desviación” y cuanto más pequeño sea el valor, mejor es el ajuste. Para saber si las variables que introdujimos en el análisis eran o

no válidas utilizamos el test de Wald, que al lado de su estimación presenta la probabilidad asociada a tal valor. Si este valor es inferior a 0.05, se considera que la variable es significativa, y válida para el modelo. Valoramos así mismo la tabla de clasificación que hace el modelo de los casos y con ello valoramos el porcentaje correcto de clasificación que nos daba idea del grado de predicción del modelo, es decir, cuánto acertaba. Al llegar a la tabla de las variables en la ecuación en la que se representan las variables predictoras con el parámetro estimado (B), error estándar (E.T.), significación estadística con la prueba de Wald, y la estimación de la Odds ratio (Exp(B)) con su intervalo de confianza, para seleccionar las variables adecuadas en el modelo, dado que trabajamos con el método “Introducir”, debíamos ir eliminando del modelo aquellas variables con E.T. >1 (error típico), una OR muy elevada y las variables no significativas en el test de Wald. Comenzamos a eliminar por las variables menos significativas y fuimos ejecutando de nuevo el análisis en cada paso. Siguiendo estos criterios, para la construcción de los modelos consideramos sólo aquellos modelos con una p del LLH >0.05 y chi-cuadrado <0.05, y unas variables que mostraron una p en el test de Wald <0.05 y un OR>1 cuyo IC95% no incluyera el 1 para asegurarnos de la calidad del modelo. Además para la construcción del modelo tuvimos en cuenta el número de variables independientes incluidas ya que lo ideal es no incluir más de una variable independiente por cada 20 pacientes y no más de una variable por cada 10 eventos.

Para evaluar los distintos modelos de regresión logística propuestos, se calculó el estadístico chi-cuadrado de Hosmer-Lemeshow para todos los modelos, considerando un nivel de significación de $p < 0,05$ y se compararon los modelos mediante la diferencia de áreas.

Para la evaluación de cada uno de los modelos determinamos la calidad diagnóstica mediante la curva ROC, que representa sobre un sistema de coordenadas la sensibilidad y la especificidad. Para determinar además si existen diferencias significativas entre las diversas AUC halladas, aplicamos el test no paramétrico de Wilcoxon.

Para aquellas variables cuya AUC resultó significativa se calculó el punto de corte óptimo a través del índice de Youden el cual maximiza como los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). Así mismo, se realizó una comparación de estas variables mediante la diferencia de áreas, según lo descrito por DeLong y cols (204)

El análisis de los datos fue realizado con la versión 15.0 del paquete estadístico Statistical Packages for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU).

3.3.3. Consideraciones éticas

El ensayo se llevó a cabo de conformidad con los principios de la Declaración de Helsinki (1996), los principios de buenas prácticas clínicas y de conformidad con todos los requisitos reglamentarios aplicables. El ensayo clínico y nuestro estudio “Biomarcadores predictores de preeclampsia y efectividad del tratamiento con aspirina en gestantes de alto riesgo” fueron aprobados por el Comité ético de Investigaciones Clínicas del HCUVA (Anexo I).

- **Consentimiento informado**

De todas las pacientes que aceptaron participar en el estudio de detección y prevención de la PE se obtuvo el pertinente consentimiento informado (Anexo II) por escrito, después de la explicación oral e información escrita del estudio (Anexo III) y siempre antes de que se realizasen procedimientos específicos del ensayo o se tomara muestra de sangre alguna para el ensayo.

En el mismo consentimiento informado se le solicitó permiso para almacenar el suero y plasma restantes tras el análisis de los marcadores empleados en el propio EECC para ser almacenados a -80°C para otros estudios sobre biomarcadores de preeclampsia, como el que desarrollamos en esta tesis.

- **Confidencialidad**

Toda la información sobre las participantes en el estudio (datos demográficos, hallazgos clínicos y datos bioquímicos de rutina se almacenaron en Modulab (Werfen, España) y Selene (Siemens, Alemania), al cual tiene acceso limitado el personal autorizado mediante una contraseña para garantizar la confidencialidad de los datos. Los resultados de las pruebas bioquímicas realizadas para el presente estudio, fueron registradas en la base de datos de Excel y SPSS, a los que sólo han tenido acceso los investigadores involucrados en este proyecto, pertenecientes a los servicios de Análisis Clínicos y de Ginecología y Obstetricia del HCUVA.

- **Declaración de Intereses**

Los investigadores nombrados en el protocolo no tienen intereses financieros ni de ningún tipo que pueda aminorar el valor científico del estudio.

4. RESULTADOS

Los resultados se abordaron de manera específica a cada uno de los objetivos planteados.

4.1. OBJETIVO 1

Describir y analizar las características físicas, epidemiológicas y bioquímicas de las pacientes incluidas en el estudio y de cada uno de los grupos de estudio

4.1.1. Características generales de la población de riesgo

El estudio incluyó a un total de 119 mujeres pertenecientes al Área de Salud I Murcia Oeste cuyo Hospital de referencia es el Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, al que acudieron para el seguimiento de rutina de su gestación y aceptaron entrar en el ensayo clínico ASPRE. El seguimiento se realizó desde el día en el que se realizaron la ecografía del primer trimestre hasta el alta hospitalaria tras el parto. Las características demográficas y los parámetros clínicos relativos se describen en la tabla 5.

CARACTERÍSTICAS MATERNAS DE LA POBLACIÓN DE RIESGO (N=119)	
Edad materna al inicio de la gestación (años ± DE)	32,5±5,29
- ≤ 35 años	66,1%
- >35 años	33,9%
Raza (%)	
- Blanca	99,1%
- Asiática	0,9%
Nuliparidad (%)	68,9%
Embarazo con la misma pareja que en anterior gestación (%)	86,5%
Concepción (%)	
- Espontáneo	90,8%
- FIV	9,2%
IMC (kg/m², media ± DE)	26,9 ±5,3
Fumadora (%)	8,2%
Alcohol u otras drogas (%)	0%
Presión arterial al inicio de la gestación	
- PAM (mmHg, media ± DE)	96,1±8,4
- PAM MoM	1,09±0,86
- PAS(mmHg, media ± DE)	127,1±10,9
- PAD(mmHg, media ± DE)	88,8±8,9
Antecedentes personales (%)	
- PE previa	10,1%

RESULTADOS

- CIR previo	6,7%
Historia materna de preeclampsia (%)	9,2%
Comorbilidades (%)	
- Diabetes de tipo II	1,8%
- Hipotiroidismo	28,4%
- Hipertensión crónica	2,7%
- Hipertiroidismo	0,9%
- Artritis reumatoide	0,9%
- Asma	0,9%
Aspirina durante la gestación (%)	
Momento de aparición de preeclampsia (%)	16,8%
- <34 semanas	7,6%
- >34 semanas	9,2%

Tabla 5. Descriptivo de las características maternas de la población a estudio. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ].

El índice de Masa Corporal (IMC), que consideramos un dato importante por su relación con la preeclampsia, se situó en $26,9 \pm 5,53$ Kg/m², con un valor mínimo de 18,6 y un máximo de 48 Kg/m². La clasificación de sobrepeso y obesidad se muestra en la siguiente tabla

Categoría	IMC (kg/m²)
Bajo peso	<18,5
Normal	18,5-24,9
Sobrepeso	25-29,9
Obesidad grado I (moderada)	30-34,9
Obesidad grado II (grave)	35-39,9
Obesidad grado III (mórbida)	>40

Tabla 6. Clasificación del IMC.

En rango de sobrepeso u obesidad encontramos a 67 pacientes (56,28%) que se correspondieron con los siguientes niveles: 43 (36,1%) sobrepeso, 16 (13,5%) obesidad grado I, 6 (5%) obesidad grado II, 2 (1,68%) obesidad grado III al inicio de la gestación.

Categoría	Frecuencia (%)
Normopeso	43,7
Sobrepeso	36,1
Obesidad grado I (moderada)	13,5
Obesidad grado II (grave)	5
Obesidad grado III (mórbida)	1,68

Tabla 7. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población global a estudio

En cuanto a los datos al parto, la edad gestacional fue de 39 semanas y el tipo de parto desencadenado en nuestra muestra fue: el 45,4% parto eutócico, el 20% parto instrumental y el 33,6 % cesárea (Tabla 7).

DATOS DEL PARTO DE LA POBLACIÓN DE RIESGO (N=119)	
Edad gestacional al parto [semanas ^{+días} , (RIQ)]	39 ⁺³ (38 ⁺¹ -40 ⁺⁴)
Inicio del trabajo de parto (%)	
- Espontáneo	44,5%
- Inducido	45,4%
- No trabajo de parto	10,1%
Tipo de parto (%)	
- Eutótico	45,40%
- Cesárea	33,6%
- instrumental	20%

Tabla 8. Descriptivo de los datos del parto

- **Características de los diferentes grupos de estudio**

- ✓ *Comparación Grupo 1 vs Grupo 2 (desarrollo de PE vs no desarrollo de PE)*

Tal y como describimos en la parte de métodos, la población de estudio (n=119) fue clasificada en 4 grupos: grupo 1 (gestantes de alto riesgo de PE que SÍ desarrollaron PE, n=12), grupo 2 (gestantes de alto riesgo de PE que NO desarrollaron PE, n=107) (Figura 11)

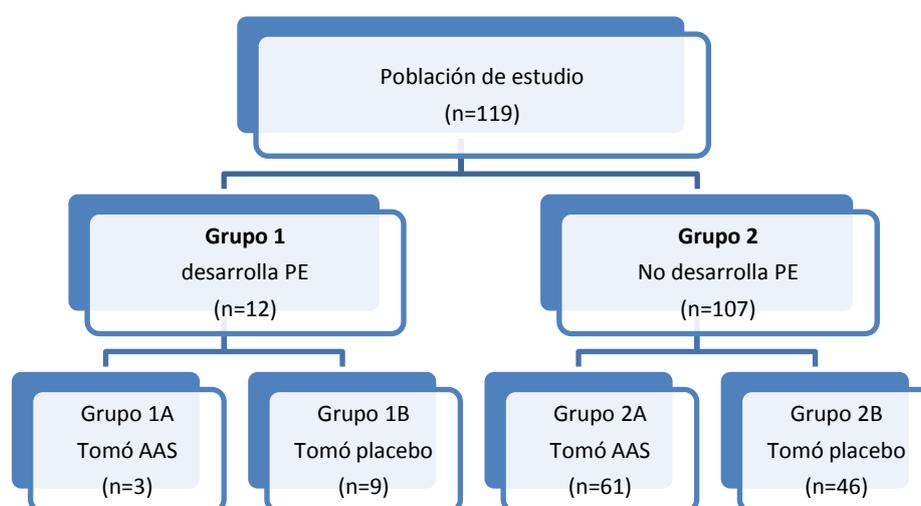


Figura 11. Población de estudio para el análisis de biomarcadores predictores de PE.

- *Análisis de las características maternas en función del desarrollo o no de PE*

Las características demográficas y clínicas de la población, estratificadas en función del desarrollo o no de PE se muestran en la Tabla 8.

CARACTERÍSTICAS MATERNAS DE LA POBLACIÓN DE RIESGO (N=119)			
	Grupo 1 (desarrolla PE)	Grupo 2 (no desarrolla PE)	Valor p
Edad materna al inicio de la gestación (años ± DE)	33,1 ± 4,8	32,8 ± 5,3	0,268
Raza (%)			
- Blanca	100%	99%	0,768
- Asiática	0%	1%	
Nuliparidad (%)	55%	71,7%	0,414
Embarazo con la misma pareja que en anterior gestación (%)	88,9%	85,7%	0,809
Concepción (%)			
- Espontáneo	85%	91,9%	0,464
- FIV	15%	7,1%	
IMC (kg/m ² , media ± DE)	30±8,5	26,27±5,65	0,045
Fumadora (%)	9,1%	8,1%	0,908
Presión arterial al inicio de la gestación			
- PAM (mmHg, media ±DE)	100,7±9,7	95,2±7,9	0,170
- PAM (MoM, media ±DE)	1,10±0,093	,09±0,085	0,495
- PAS (mmHg, media ±DE)	131,6±11,9	126,2±10,5	0,922
- PAD (mmHg, media ±DE)	84,7±8,6	80,1±8,2	0,615
Antecedentes personales (%)			
- PE previa	25%	7,1%	0,015
- CIR previo	10%	6,1%	0,521
Historia materna de preeclampsia (%)	20%	8,1%	0,464
Comorbilidades (%)	72,8%	31,3%	0,003
- Diabetes de tipo II	18,2%	0%	<0,001
- Hipotiroidismo	27,3%	28,3%	0,693
- Hipertensión crónica	9,1%	5,1%	0,007
- Artritis reumatoide	9,1%	0	0,010
- Asma	9,1%	1%	0,191
Momento de aparición de preeclampsia (%)			
- <34 semanas	41,6%	-	-
- >34 semanas	58,3%	-	-

Tabla 9. Comparativa de las características maternas en el grupo que desarrolló PE y el que no. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media ± DE o mediana [RIQ]. Los valores p estadísticamente significativos se resaltan en negrita.

Los grupos de estudio 1 y 2 no difirieron en edad materna, raza, nuliparidad, concepción con la misma o con diferente pareja, embarazo mediante técnicas de RA, condición de fumador, existencia de hipotiroidismo o antecedente de CIR previo. Tampoco se encontraron diferencias significativas en sus datos de presión arterial (PAM, PAS, PAD) al inicio del embarazo ($p > 0,05$)

Las gestantes que desarrollaron preeclampsia tienen un IMC mayor, y presentaron más comorbilidades como diabetes tipo II, hipertensión crónica, artritis y asma ($p < 0,05$).

- *Análisis de los resultados perinatales en función del desarrollo o no de PE.*

En cuanto a los datos del parto y del neonato de la población estudiada, se resumen en la tabla 9. Las mujeres con PE presentaron una menor edad gestacional al parto, con una diferencia más de dos semanas ($< 0,001$); sus partos fueron con mayor frecuencia inducidos ($p < 0,001$) y se encontraron un mayor número de partos por cesárea que en el grupo que no desarrolló PE ($p = 0,005$).

Así mismo, en el grupo de mujeres con PE los neonatos tuvieron un menor peso al nacer, que fue un 20% menor que en los casos de gestaciones sin PE ($p < 0,001$); el Apgar 1 min fue más bajo, así como hubo un mayor número de ingresos en UCIN que se asociaron a estancias más largas en este servicio ($p < 0,001$).

DATOS DEL PARTO DE LA POBLACIÓN DE RIESGO (N=119)			
	Grupo 1 (PE)	Grupo 2 (no PE)	Valor p
Edad gestacional al parto (semanas ^{días} [RIQ])	37 ⁺³ [35 ⁺⁰ -38 ⁺⁶]	39,5 ⁺³ [39 ⁺¹ -40 ⁺⁴]	<0,001
Inicio del trabajo de parto (%)			
- Espontáneo	10%	51,5%	<0,001
- Inducido	60%	42,4%	
- No trabajo de parto	30%	6,1%	
Tipo de parto (%)			
- Eutócico	30%	48,5%	0,005
- cesárea	65%	27,3%	
- instrumental	5%	24,2%	
CARACTERÍSTICAS DEL NEONATO			
Peso al nacer (g, media ± DE)	2630±777g	3275,45±416g	0,01
Bajo peso al nacer (%)	35%	3%	<0,001
Apgar 1min (mediana, [RIQ])	9 [9-9]	9 [9-9]	0,025
Apgar 5min (mediana, [RIQ])	10 [10-10]	10 [10-10]	0,061
Apgar 10min (mediana, [RIQ])	10 [10-10]	10 [10-10]	0,503
pH arterial sangre cordón (media ± DE)	7,26 ±0,114	7,255±0,663	0,217
pH venoso sangre cordón (media ± DE)	7,29±0,116	7,312±0,0768	0,126
Ingreso en UCIN (%)	10,5%	1%	<0,001
Días de estancia en UCIN	2,65 ±7,3	0,5 ±0,9	<0,001

Tabla 10. Comparativa de los resultados perinatales en el grupo que desarrolló PE y el que no. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media ± DE o mediana [RIQ].

✓ *Comparación Grupo tratado con aspirina vs Grupo tratado con placebo*

- *Análisis de las características maternas en función de la toma de aspirina o placebo*

En nuestro grupo de pacientes, 64 participantes pertenecieron al grupo de aspirina y 55 al grupo placebo. Entre ambos grupos no se encontraron diferencias significativas respecto a las características de los participantes al inicio del estudio (Tabla 10).

CARACTERÍSTICAS MATERNAS DE LA POBLACIÓN DE RIESGO (N=119)			
	PLACEBO	ASPIRINA	p
Edad materna al inicio de la gestación (años± DE)	32,97±5,6	32,84±5,27	0,607
Raza (%)			
- Blanca	100	98,3	0,360
- Asiática	0	1,7	
Nuliparidad (%)	70	71,2	0,892
Embarazo con la misma pareja que la anterior (%)	80	88,2	0,552
Concepción (%)			
- Espontáneo	88	91,5	0,526
- FIV	10	8,5	
IMC (kg/m², media ± DE)	27,43±7,6	26,10±4,42	0,056
Fumadora (%)	4	11,9	0,145
Alcohol u otras drogas (%)	0	0	-
Presión arterial al inicio de la gestación			
- PAM (mmHg, media ± DE)	96,45±7,98	95,43±8,67	0,5
- PAM MoM	1,09±0,08	1,09±0,089	0,213
- PAS(mmHg, media ± DE)	128,3±10,6	125,91±11,10	0,695
- PAD(mmHg, media ± DE)	80,5±7,65	80,92±10,11	0,362
Antecedentes personales (%)			
- PE previa	4	10,2	0,218
Historia materna de preeclampsia (%)	4	11,9	0,296
Comorbilidades (%)			0,695
- Diabetes de tipo II	4	1,7	0,617
- Hipotiroidismo	30,6	27,1	0,689
- Hipertensión crónica	10,2	3,4	0,312
- Hipertiroidismo	2	5,1	0,412
- Artritis reumatoide	4,1	0	0,156
- Asma	4,1	0	0,117

Tabla 11. Comparativa de las características maternas en el grupo tomó AAS vs placebo. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media ± DE o mediana [RIQ].

- *Análisis de los resultados perinatales maternas en función de la toma de aspirina o placebo*

Tampoco se encontró ninguna diferencia significativa en cuanto a los resultados perinatales estudiados entre los dos brazos del ensayo (Tabla 11).

DATOS DEL PARTO DE LA POBLACIÓN DE RIESGO (N=119)			
	PLACEBO	ASPIRINA	p
Edad gestacional al parto (semanas^{días} [RIQ])	39 ⁺² (38 ⁺³ -40 ⁺⁰)	39 ⁺³ (39 ⁺² -40 ⁺³)	0,364
Inicio del trabajo de parto (%)			
- Espontáneo	38%	52,5%	0,274
- Inducido	50%	40,7%	
- No trabajo de parto	12%	6,8%	
Tipo de parto (%)			
- Eutócico	50%	40,7%	0,755
- Cesárea	30%	33,9%	
- Instrumental	20%	25,4%	
CARACTERÍSTICAS DEL NEONATO			
Peso al nacer (g, media ± DE)	3201±559,8g	3263±399,8g	0,492
Bajo peso al nacer (%)	92%	96,6%	0,583
Apgar 1min (mediana, [RIQ])	9 [9-9]	9 [9-9]	0,848
Apgar 5min (mediana, [RIQ])	10 [10-10]	10 [10-10]	0,853
Apgar 10min (mediana, [RIQ])	10 [10-10]	10 [10-10]	0,494
pH arterial sangre cordón (media ± DE)	7,27 ±0,07	7,25±0,06	0,443
pH venoso sangre cordón (media ± DE)	7,31±0,07	7,3±0,09	0,883
Ingreso en UCIN (%)	8%	1,7%	0,117
Días de estancia en UCIN	0,34 ±2,4	0,15±1,17	0,896

Tabla 12. Comparativa de los resultados perinatales en el grupo que tomó AAS vs placebo. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media ± DE o mediana [RIQ].

- ✓ *Características de la población con PE precoz vs PE tardía y PE pretérmino vs a término*

En nuestra muestra de estudio se dieron 12 casos de preeclampsia de los que 5 debutaron de forma precoz, es decir, antes de la semana 34 de gestación, y 7 fueron de inicio tardío, apareciendo de forma posterior a la semana 34 de gestación. Estudiamos las diferencias maternas entre estos dos tipos de PE y se encontraron algunas diferencias intergrupo (Tabla 12). La desigualdad fue encontrada en el tipo de concepción, habiendo más embarazos por FIV en la PE de inicio tardío. Además, las pacientes con PE precoz tenían más antecedentes

RESULTADOS

personales y familiares de PE y comorbilidades como diabetes, HTA, artritis y asma. En el resto de características maternas no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$)

CARACTERÍSTICAS DE LAS GESTACIONES EN FUNCIÓN DE LA APARICIÓN DE PREECLAMPSIA TARDÍA O PRECOZ.			
	PE precoz (n=5)	PE tardía (n= 7)	Valor p
Edad materna al inicio de la gestación (años, media \pm DE)	34,37 \pm 4,5	32,20 \pm 5,0	0,872
Raza Blanca (%)	100%	100%	-
Nuliparidad (%)	33,3%	72,7%	0,056
Embarazo con la misma pareja que la anterior (%)	83,3%	100%	0,766
Concepción (%)			
- Espontáneo	100%	72,4%	0,046
- FIV	0%	27,3%	
IMC (kg/m ² , media \pm DE)	39,08 \pm 7,56	25,28 \pm 3,46	0,312
Fumadora (%)	0%	14,3%	0,703
Presión arterial al inicio de la gestación			
1. PAM (mmHg, media \pm DE)	104,9 \pm 11	93,35	0,124
2. PAM (MoM, media \pm DE)	1,08 \pm 0,09	1,11	0,730
3. PAS (mmHg, media \pm DE)	135,6 \pm 14,79	128,3 \pm 8,3	0,203
4. PAD (mmHg, media \pm DE)	88,27 \pm 8,94	81,8 \pm 7,5	0,360
Antecedentes personales (%)			
5. PE previa	55,6%	9,1%	0,002
6. CIR previo	22,2%	0%	0,166
Historia materna de preeclampsia (%)	33,3%	9,1%	0,034
Comorbilidades	77,7%	27,3%	<0,001
- Diabetes de tipo II	22,2%	0%	<0,001
- Hipotiroidismo	11,1%	18,2%	0,825
- Hipertensión crónica	33,3%	0%	<0,001
- Hipertiroidismo	0%	0%	-
- Artritis reumatoide	0%	9,1%	0,005
- Asma	11,1%	0%	0,002

Tabla 13. Comparativa de las características maternas en el grupo que desarrolló PE de inicio precoz vs PE de inicio tardío.

Del mismo modo se compararon las gestaciones en función del tipo de preeclampsia comparando las gestaciones con preeclampsia que concluyeron antes o después de la semana 37 de gestación. En este caso sólo se encontraron diferencias en la edad materna al inicio de la gestación, que fue mayor en los casos de la PE a término.

CARACTERÍSTICAS DE LAS GESTACIONES EN FUNCIÓN DEL TIPO DE PREECLAMPSIA: PRETÉRMINO VS A TÉRMINO.			
	PE pretérmino (n=6)	PE a término (n= 6)	Valor p
Edad materna al inicio de la gestación (años, media ± DE)	30,5±7,34	34,66 ±2,65	0,001
Raza Blanca (%)	100%	100%	1
Nuliparidad (%)	66%	50%	0,558
Embarazo con la misma pareja que la anterior (%)	100%	60%	0,361
Concepción (%)			
- Espontáneo	84%	66%	0,505
- FIV	16%	33%	
IMC (kg/m ² , media ± DE)	33,43±10,4	27,6±6,34	0,168
Fumadora (%)	0%	16%	0,338
Presión arterial al inicio de la gestación			
7. PAM (mmHg, media ± DE)	102,2±9,6	98,3±11,3	0,055
8. PAM (MoM, media ± DE)	1,09±0,07	1,1±0,09	0,310
9. PAS (mmHg, media ± DE)	135±13,6	128,2±12	0,798
10. PAD (mmHg, media ± DE)	85,8±8,1	84,25±11,25	0,659
Antecedentes personales (%)			
11. PE previa	20%	20%	1
12. CIR previo	0%	0%	1
Historia materna de preeclampsia (%)	20%	20%	1
Comorbilidades			
- Diabetes de tipo II	40%	0%	0,087
- Hipotiroidismo	60%	0%	0,0217
- Hipertensión crónica	40%	20%	0,387
- Artritis reumatoide	0%	16,6%	0,338
- Asma	20%	0%	0,251

Tabla 14. Comparativa de las características maternas en el grupo que desarrolló PE de inicio precoz vs PE pretérmino vs a término.

✓ *Análisis de los casos en función del momento de aparición de la preeclampsia.*

Posteriormente analizamos las características de la PE en función de si el inicio de la enfermedad fue temprano o tardío junto con los datos del parto y neonatales (Tabla 14).

CARACTERÍSTICAS DE LA PREECLAMPSIA EN FUNCIÓN DEL MOMENTO DE INICIO DE LA PREECLAMPSIA			
	PE precoz (n=5)	PE tardía (n=7)	Valor p
Edad debut PE (años, mediana [RIQ])	32 ⁺³ [29 ⁺¹ -33 ⁶]	37 ⁺² [36 ⁺¹ -38 ⁺⁴]	0,056
Marcadores en el debut de PE			
- PAS (mmHg, media ± DE)	159 ± 21,4	152,25±13,20	0,076
- PAD (mmHg, media ± DE)	95,1±14,55	95,50±5,42	0,170
- Hemoglobina (g/dl, media ± DE)	11,9±0,97	11,65±1,46	0,143
- Plaquetas (x10 ³ /μL, media ± DE)	206,8±67,3	268±76	0,708
- Ácido úrico (mg/dL, media ± DE)	4,8±1,1	4,70±1,44	0,405
- Urea (mg/dL, media ± DE)	17±7,5	20,5±2,12	0,516
- Creatinina (mg/dL, media ± DE)	0,533±0,23	0,575±0,128	0,199
- AST (UI/L, media ± DE)	47,44±83,39	24,33	0,062
- ALT (UI/L, media ± DE)	18,87±18,27	20,66	0,793
- INR (media ± DE)	0,95±0,10	0,901	0,015
PE con características severas (%)	18,2%	22,2%	0,354
- Desarrollo de síndrome de HELLP	0%	11,1%	
- DPP	9,1%	0%	
- Trombocitopenia (<150000/ μL)	9,1%	0%	
- Eclampsia	0%	11,1%	
DATOS DEL PARTO EN FUNCIÓN DEL MOMENTO DE INICIO DE LA PREECLAMPSIA			
Intervalo en días desde debut de PE hasta parto (media ± DE)	19,75±20,4	2,25±1,38	<0,001
Edad gestacional al parto (semanas ^{días} , mediana [RIQ])	35 ⁺¹ [31 ⁺⁰ -37 ⁺⁴]	37 ⁺² [36 ⁺¹ -38 ⁺⁴]	0,003
Inicio del parto (%)			0,003
- Espontáneo	11,1%	9,1%	
- Inducido	44,4%	72,7%	
- No trabajo de parto	44,4%	18,2%	
Vía de de parto (%)			0,006
- Cesárea	88,9%	45,5%	
- Vaginal	11,1%	55,5%	
CARACTERÍSTICAS DEL NEONATO EN FUNCIÓN DEL MOMENTO DE INICIO DE LA PREECLAMPSIA			
Peso al nacer (g, media ± DE)	2425±1119,2	2797±277,1	<0,001
Apgar 1min (mediana, [RIQ])	9[7-9]	9[9-9]	0,518
Apgar 5min (mediana, [RIQ])	10[9-10]	10[10-10]	0,010
Apgar 10min (mediana, [RIQ])	10[9,5-10]	10[10-10]	0,005
pH arterial sangre cordón (media ± DE)	7,30±0,08	7,23±0,14	0,332
pH venoso sangre cordón(media ± DE)	7,31±0,06	7,27±0,15	0,027
Ingreso en UCIN (%)	77,8%	9,1%	<0,001
Estancia UCIN (días, media ± DE)	5,89±10,25	0	<0,001

Tabla 15. Comparativa de las características de la preeclampsia, datos del parto y neonatales en la PE de inicio precoz vs PE de inicio tardío. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media ± DE o mediana [RIQ].

Con respecto a la edad de debut de inicio de la PE, vemos que hay una diferencia de medias de más de 5 semanas que roza la significancia estadística ($p=0,056$). En cambio, no se encontraron diferencias significativas en ningún biomarcador analizado al debut de la preeclampsia, ni en la severidad de la enfermedad. Sí que hubo diferencias significativas en cuanto a los días transcurridos desde el debut de la PE hasta el parto, que fueron 17 días más en la PE de inicio tardío con respecto a la precoz ($p < 0,001$). El inicio del parto y la vía de parto también presentaron diferencias, encontrando mayor número de cesáreas en la PE de inicio temprano ($p < 0,05$). Los datos neonatales también mostraron diferentes resultados en cuanto al peso al nacer que fue menor en la PE precoz, así como presentaron menores el Apgar a los 5 y 10 min ($p < 0,05$). Además los neonatos de mujeres con PE precoz presentaron un mayor porcentaje de ingresos en UCIN y su estancia en este servicio también fue mayor ($p < 0,001$).

Así mismo, procedimos a comparar las características de la PE, datos del parto y neonatales en relación con el tipo de preeclampsia, PE pretérmino frente a aquéllas a término. Encontramos diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ALT al debut de la PE, que fue mayor en las PE pretérmino. Del mismo modo, las diferencias entre los valores de APGAR 1 min y 5 min alcanzó significación estadística, y hubo un mayor número de neonatos que ingresaron en UCIN.

CARACTERÍSTICAS DE LA PREECLAMPSIA EN FUNCIÓN DEL TIPO DE PREECLAMPSIA, PRETÉRMINO VS A TÉRMINO			
	PE pretérmino (n=6)	PE a término (n=6)	Valor p
Edad debut PE (años, mediana [RIQ])	33 ⁺¹ [31 ⁺⁰ -35 ⁺⁴]	36 ⁺⁵ [36 ⁺⁰ -38 ⁺⁴] 36,83±2,63	0,195
Marcadores en el debut de PE			
- PAS (mmHg, media ± DE)	158,1±16,06	163,3±15,61	0,812
- PAD (mmHg, media ± DE)	97,16±7,65	98,66±5,31	0,261
- Hemoglobina (g/dl, media ± DE)	11,21±1,4	11,8±0,98	0,541
- Plaquetas (x10 ³ /μL, media ± DE)	222±52,84	223,1±94	0,115
- Ácido úrico (mg/dL, media ± DE)	4,90±1,18	5,30±1,23	0,8
- Urea (mg/dL, media ± DE)	22±1,01	18±1,41	0,878
- Creatinina (mg/dL, media ± DE)	0,58±0,11	0,47±0,17	0,481
- AST (UI/L, media ± DE)	25,5±11,7	17.0±6.16	0.131
- ALT (UI/L, media ± DE)	23.0±17.1	12.2±2,82	0,009
- INR (media ± DE)	0,90±0,04	0,96±0,05	0,474
PE con características severas (%)	16,6%	16,6%	0,306
- Desarrollo de síndrome de HELLP	0%	0%	
- DPP	0%	0%	
- Trombocitopenia (<150000/ μL)	0%	16,6%	
- Eclampsia	16,6%	0%	
DATOS DEL PARTO EN FUNCIÓN DEL TIPO DE PREECLAMPSIA, PRETÉRMINO VS A TÉRMINO			
Intervalo en días desde debut de PE hasta parto (media ± DE)	16,0±23	11,8±14	0,459
Edad gestacional al parto (semanas ^{días} , mediana [RIQ])	35 ⁺³ [33 ⁺⁰ -36 ⁺⁴]	38 ⁺² [37 ⁺¹ -38 ⁺⁶]	0,128
Inicio del parto (%)			0,193
- Espontáneo	33,3%	83,3%	
- Inducido	33,3%	83,3%	
- No trabajo de parto	50%	16,6%	
Vía de de parto (%)			0,4
- Cesárea	83,3%	50%	
- Vaginal	16,6	50%	
CARACTERÍSTICAS DEL NEONATO EN FUNCIÓN DEL TIPO DE PREECLAMPSIA, PRETÉRMINO VS A TÉRMINO			
Peso al nacer (g, media ± DE)	2672±1048	3045±199	0,061
Apgar 1min (mediana, [RIQ])	9[7-9]	9[9-9]	0,031
Apgar 5min (mediana, [RIQ])	10[9-10]	10[10-10]	0,031
Apgar 10min (mediana, [RIQ])	10[10-10]	10[10-10]	0,933
pH arterial sangre cordón (media ± DE)	7,33±0,05	7,24±0,04	0,232
pH venoso sangre cordón(media ± DE)	7,36±0,08	7,25±0,11	0,704
Ingreso en UCIN (%)	66,6%	0%	0,014
Estancia UCIN (días, media ± DE)	2,83±6,94	0	0,031

16. Tabla 14. Comparativa de las características de la preeclampsia, datos del parto y neonatales en la PE pretérmino vs PE a término. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media ± DE o mediana [RIQ].

4.2. OBJETIVO 2.

Determinar el valor de los biomarcadores a estudio en los tres trimestres de gestación y evaluar su rendimiento como marcadores predictores de PE en gestantes de riesgo.

4.2.1. Análisis de los biomarcadores en el primer trimestre de gestación

- Análisis de los biomarcadores de rutina del primer trimestre

En primer lugar, se compararon los parámetros incluidos en la primera analítica de rutina de la mujer embarazada correspondiente a la analítica del primer trimestre de gestación, incluido en el programa PIAM de la región de Murcia. En ella se incluyen los biomarcadores PAPP-A y β -hCG, que se realizan para calcular el riesgo de aneuploidías y un hemograma. Hubo diferencias entre el grupo que desarrolló PE y el grupo que no en la PAPP-A y β -hCG (Tabla 16).

MARCADORES DE RUTINA EN EL SEGUIMIENTO DE LA MUJER EMBARAZADA			
1ª analítica (1º trimestre)			
	grupo 1(PE)	grupo 2 (no PE)	valor p
HEMOGRAMA			
Hemoglobina (g/dL)	12,7 [12,1-13,2]	12,7[11,9-13,3]	0,957
Hematocrito (%)	38±3,7	38,05±2,57	0,482
Volumen corpuscular medio (fL)	87,15±5,15	88,24±4,85	0,274
Recuento de plaquetas (x10 ³ /μl)	279,3±66,3	270,2±71,10	0,503
Recuento de leucocitos (x10 ³ /μl)	10,29±1,72	9,40±2,22	0,519
Recuento de neutrófilos (x10 ³ /μl)	6,69±1,57	6,22±2,09	0,704
Recuento de linfocitos (x10 ³ /μl)	2,47±0,70	2,32±0,74	0,826
CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS DEL PRIMER TRIMESTRE			
PAPP-A cribado aneuploidias (mUI/L)	0,77±0,96	1,04±0,77	0,037
PAPP-A cribado aneuploidias MoM	0,64±0,21	0,77±0,47	0,858
β -hCG cribado aneuploidias (UI/L)	33,±18,8	59,4 ±40,56	0,045
β -hCG cribado aneuploidias MoM	0,65±0,49	1,17±0,71	0,041

Tabla 17. Comparación de los parámetros bioquímicos y hematológicos en el grupo 1 y 2 en el primer trimestre de gestación. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ].

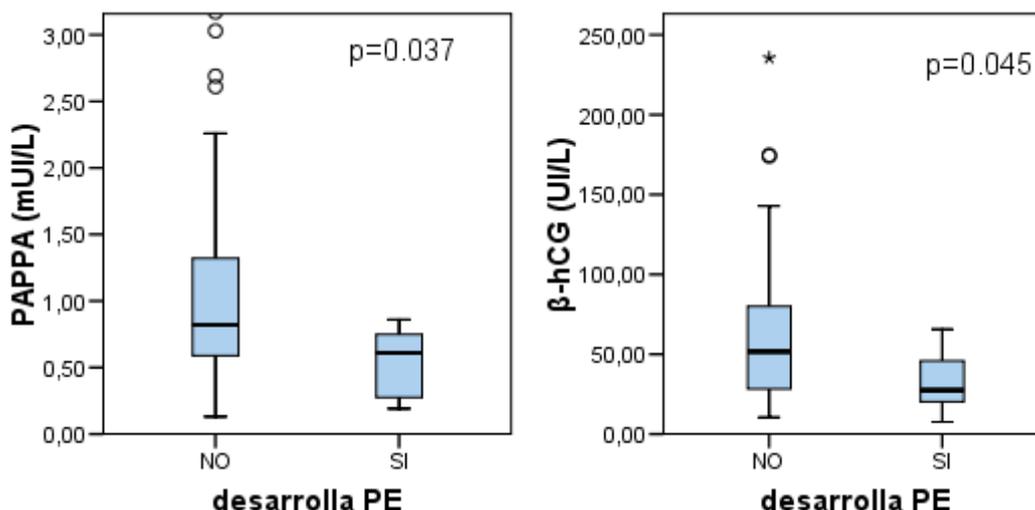


Figura 12. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores de rutina que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupo que desarrolló PE y el que no en el primer trimestre de gestación.

- **Análisis de los biomarcadores propuestos para el estudio de PE en el primer trimestre**

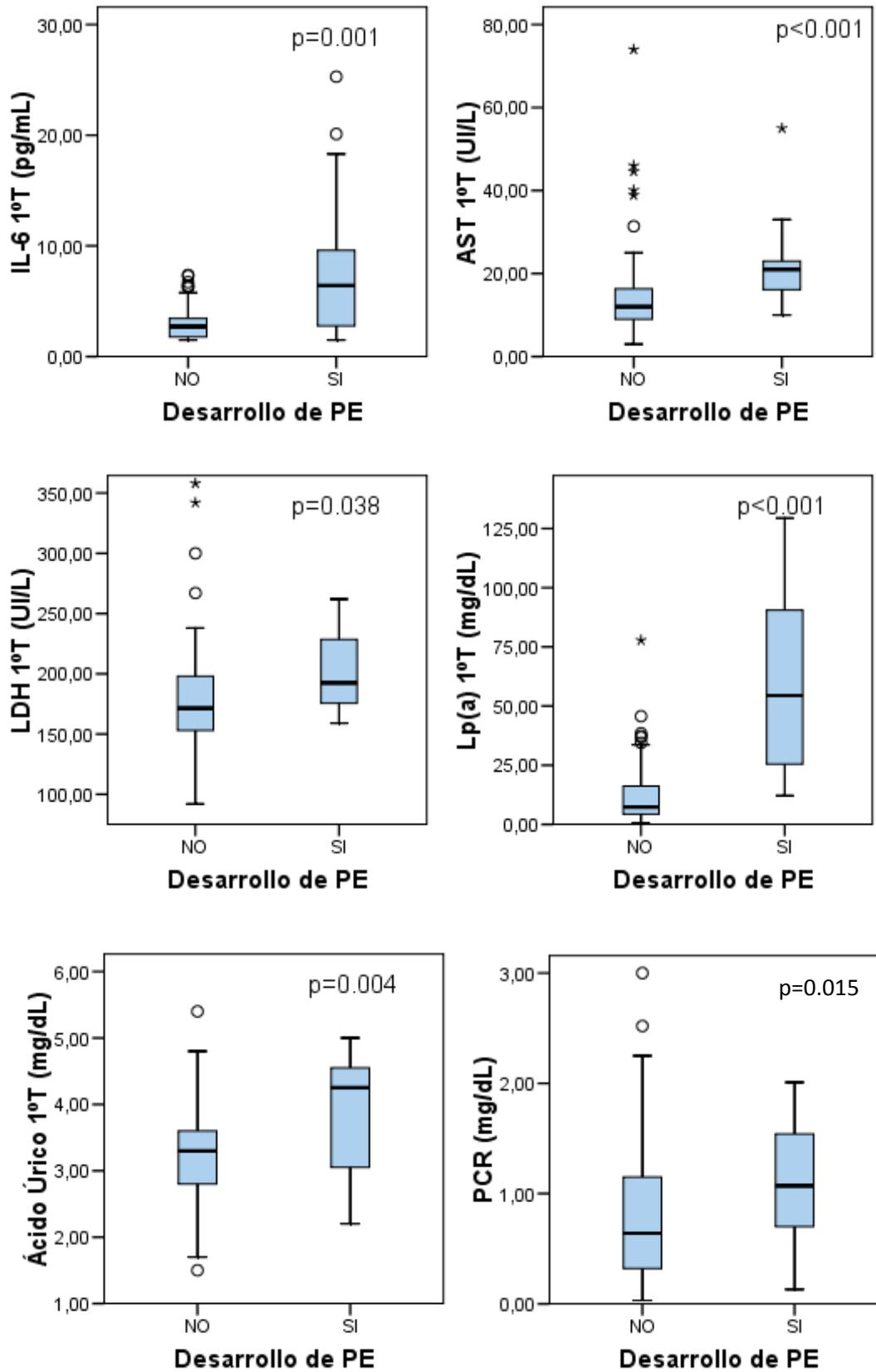
Posteriormente comparamos los marcadores propuestos como posibles predictores de PE entre el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no lo hizo (grupo 2) (Tabla 17). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de AST ($p < 0,001$), LDH (0,038), IL-6 ($p = 0,001$), PCR (0,015), PAPP-A MoM ($p = 0,037$), Lp(a) ($p < 0,001$), ácido úrico ($p = 0,004$) y Leptina ($p = 0,034$).

MARCADORES PROPUESTOS COMO PREDICTORES DE PREECLAMPSIA EN EL 1º trimestre			
	grupo 1(PE)	grupo 2 (no PE)	valor p
BIOQUÍMICA GENERAL			
Glucosa (mg/dL)	84,5 [76,25-103,25]	80,5 [75-87,25]	0,142
Albúmina (g/dL)	4,79 [4,58-5,08]	4,60 [4,35-4,81]	0,054
Proteínas totales (g/dL)	7,88 [7,8-8,03]	7,60 [7,16-7,90]	0,302
Hierro (mg/dL)	103,4±38,8	119,81±42,78	0,816
Ferritina (mg/dL)	61,4±47,1	53,00±35,80	0,068
Transferrina (mg/dL)	373,7±51,1	329,42±62,22	0,344
PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA			
Bilirrubina total (mg/dL)	0,26 [0,16-0,47]	0,3 [0,21-0,40]	0,835
ALT (UI/L)	14 [11,8-20,75]	12,6 [10-16,9]	0,125
AST (UI/L)	21 [15,65-23]	12 [9-16,35]	<0,001
ALP (UI/L)	61,38±6,62	53,5±4,94	0,946
LDH (UI/L)	192,5 [174,25-229,75]	171,5 [152,2-198,5]	0,038

MARCADORES PROPUESTOS COMO PREDICTORES DE PREECLAMPSIA EN EL 1º trimestre (continuación)			
MARCADORES DE INFLAMACIÓN			
PCR (mg/dL)	1,07 [0,69-1,66]	0,64 [0,32-1,16]	0,015
IL-6 (pg/mL)	6,42 [2,58-9,8]	2,70 [1,77-3,45]	0,001
MARCADORES REGULADORES DE LA ANGIOGÉNESIS			
PIGF (pg/mL)	21,3 [13-30]	24,1 [18,3-29,9]	0,636
PIGF MoM	0,84±0,31	1,08±0,61	0,639
sFlt-1 (pg/ml)	1130±334,00	1297,34±526,27	0,182
sFlt-1 MoM	0,87±0,25	1,00±0,4	0,158
Ratio sflt-1:PIGF	65,41[33,02-97,87]	51,31 [35,08-79,60]	0,728
MARCADORES PLACENTARIOS			
PAPP-A (mUI/mL)	1194,4 [713-1408]	1701 [1120,7-2718,3]	0,199
PAPP-A MoM	0,66±0,24	1,47±0,88	0,037
β -hCG (µg/mL)	28,48±17,5	336,33±2933,13	0,556
β -hCG (MoM)	0,80±0,49	1,17±0,78	0,189
MARCADORES DE FUNCIÓN RENAL			
Urea (mg/dL)	19,6[19,15-21,8]	24,6 [18-28,8]	0,695
Creatinina (mg/dL)	0,568±0,120	0,61±0,12	0,987
FG estimado creatinina (mL/min)	123,02±11,61	118,75±15,1	0,577
Cistatina C (mg/L)	0,60±0,0648	0,59±0,09	0,17
FG estimado cistatina C (mL/min)	126,19±8,04	128,46±14,7	0,566
MARCADORES DE DISLIPEMIA			
Colesterol total (mg/dL)	220 [200,2-234,8]	205,8 [190,3-240,8]	0,393
Colesterol HDL (mg/dL)	76,04±23,29	76,28±19,78	0,285
Colesterol LDL (mg/dL)	105,15 [87,1-128,7]	104,49 [85,84-128,66]	0,674
Triglicéridos (mg/dL)	186,83±115,4	144,41±62,45	0,288
Lipoproteína (a) (mg/dL)	54,4 [18,6-96]	7,34 [4,32-16,85]	<0,001
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO			
Capacidad antioxidante total del suero (mmol/L)	1,655 [1,60-1,74]	1,645 [1,57-1,75]	0,635
Ácido úrico (mg/dl)	4,25 [2,97-4,62]	3,3 [2,8-3,6]	0,004
Homocisteína (µmol/L)	7,4±1,2	7,08±1,74	0,307
MARCADORES DE REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOCRINA			
Leptina (ng/mL)	7,85 [6,38-9,3]	6 [4,93-8,04]	0,034
TSH (µIU/mL)	2,64±±2,04	1,98±1,23	0,222
MINERALES			
Calcio (mg/dL)	10,6±0,96	10,39±1,08	0,715
Magnesio (mg/dL)	2,21 [2,18-2,3]	2,15 [2,02-2,27]	0,202

Tabla 18. Comparación de los marcadores propuestos como predictores de PE en la el grupo 1 y 2 en el primer trimestre de gestación. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]

En la figura 13 se muestran los diagramas de cajas de los biomarcadores en los que se detectaron diferencias significativas entre el grupo 1 y 2 de estudio.



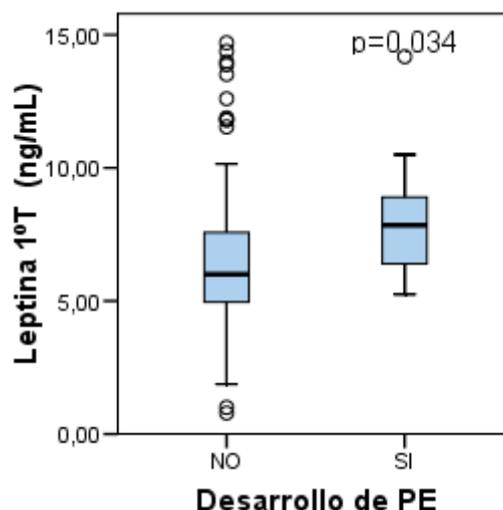


Figura 13. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores predictores de PE en el grupo que desarrolló PE y el que no en el primer trimestre de gestación.

- **Análisis del rendimiento diagnóstico de los biomarcadores significativos del primer trimestre**

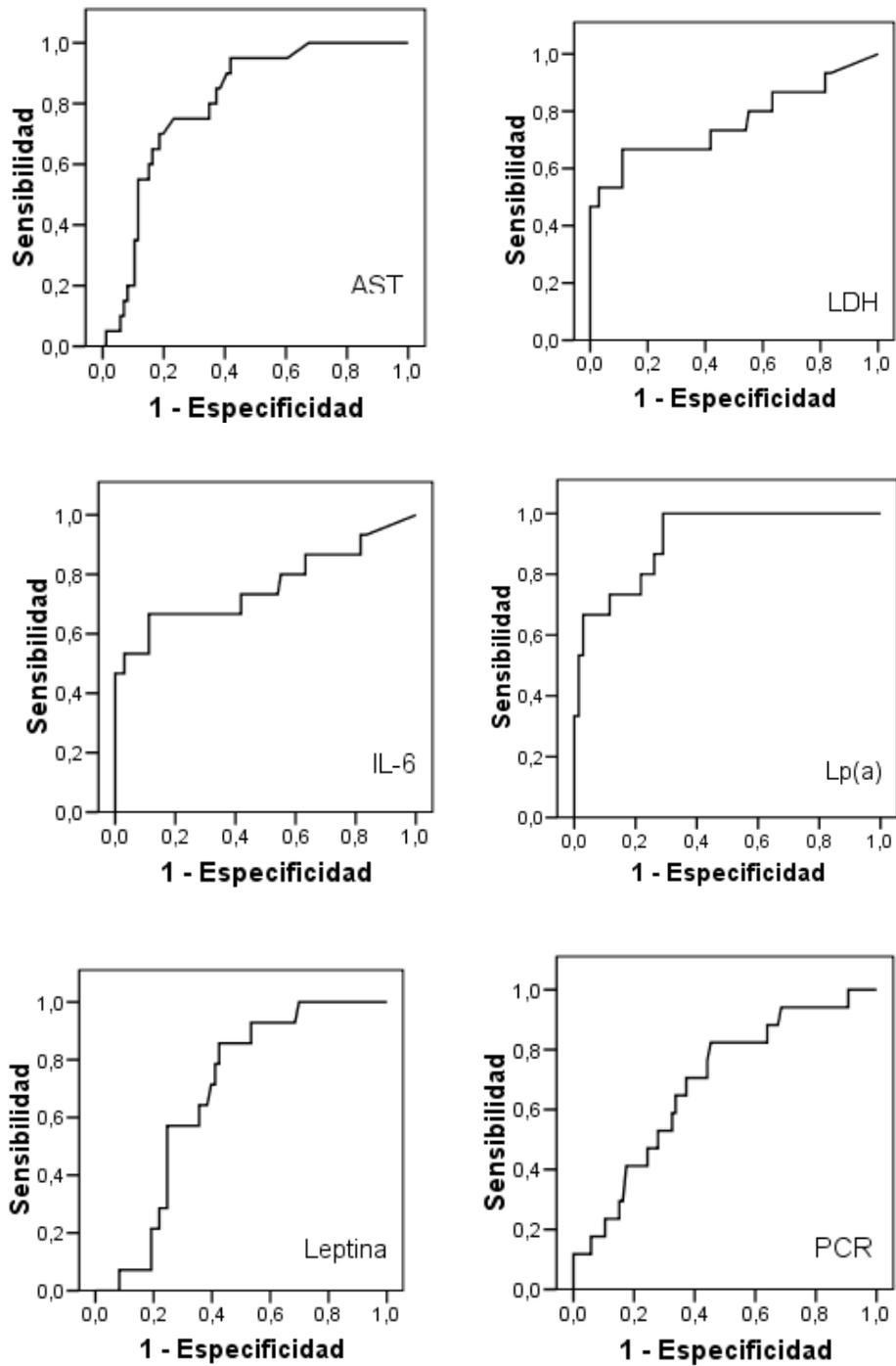
Se analizó el rendimiento diagnóstico de los marcadores capaces de discriminar entre el grupo de riesgo que desarrolló PE (grupo 1) y grupo de riesgo que no la desarrolló (grupo 2) en el primer trimestre de gestación.

Se obtuvo para cada una de las variables el área bajo la curva (AUC) con su correspondiente valor de significación, así como el intervalo de confianza cuyos resultados aparecen reflejados en la tabla 18.

VARIABLE	AUC	Valor p	IC95%	
			LÍMITE SUPERIOR	LÍMITE INFERIOR
AST	0,81	<0,001	0,715	0,896
LDH	0,66	0,038	0,549	0,779
IL-6	0,76	0,001	0,596	0,927
PCR	0,687	0,015	0,555	0,818
Lp(a)	0,92	<0,001	0,847	0,983
Ácido úrico	0,7	0,004	0,553	0,856
Leptina	0,68	0,034	0,563	0,798
PAPP-A MoM	0,714	0,34	0,581	0,847

Tabla 19. Valores del área bajo la curva (AUC), valor de p e intervalos de confianza de los biomarcadores para la predicción de preeclampsia en el primer trimestre.

Mediante análisis de curvas ROC obtuvimos los siguientes áreas bajo la curva (Figura 14).



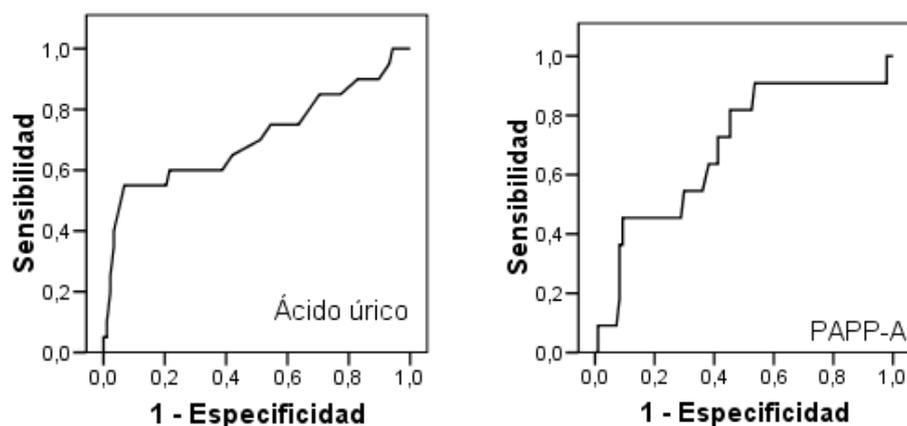


Figura 14. Curva ROC para la predicción de PE de los biomarcadores en el primer trimestre de gestación

Tras el análisis de las curvas ROC, se calculó el punto de corte, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de AST, LDH, IL-6, PCR, Lp(a), ácido úrico, y leptina ya que fueron las variables que aportaron un AUC con un valor de p estadísticamente significativo ($p < 0,05$). Así mismo se determinó el índice de Youden, que analiza la capacidad diagnóstica del biomarcador. Este índice se define como:

$$\text{Índice de Youden} = \text{Sensibilidad} + \text{Especificidad} - 1$$

El resultado del índice de youden varía de -1 a +1. Si el resultado es inferior o igual a cero la prueba no da ninguna información, pero cuanto mayor es, mejor es el punto de corte propuesto ya que optimiza el valor de sensibilidad y especificidad.

Biomarcador 1T	Cutoff	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	I.Youden	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
AST (UI/L)	16,75	75	76,7	0,51	75	76,7	23,3
LDH (UI/L)	185,5	68,7	67,4	0,36	38,2	67,4	32,6
IL-6 (pg/mL)	4,68	66,6	88,7	0,55	66,6	88,7	11,3
PCR (mg/dL)	0,64	82,3	52	0,35	82,3	52,3	48
Lp(a) (mg/dL)	11,95	100	71	0,71	42,8	100	29
Ácido úrico (mg/dL)	4,15	55	93,1	0,48	55	97,7	6,9
Leptina (ng/mL)	6,23	85,7	57,3	0,43	27,9	95,4	21
PAPP-A MoM	<0,87	88,8	47,4	0,41	13	96	58,6

Tabla 40: Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y tasa de falsos positivos (TFP) de los biomarcadores para la detección de PE en el primer trimestre de gestación.

Se realizó un análisis comparativo entre las variables cuya AUC resultó significativa. Para ello se compararon los estadísticos c de cada una de estas biomarcadores mediante la diferencia de áreas, según lo descrito por DeLong y cols (204). No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en ningún caso (tabla 19).

		DIFERENCIA AUC BM 1T	
BM 1 (1T)	BM 2 (1T)	Valor (IC95%)	p
AST	ÁCIDO ÚRICO	0.0207 (-0.187-0.228)	0.84
	IL-6	0.162 (-0.215-0.540)	0.3995
	LDH	0.0599(-0.136-0.256)	0.5490
	LEPTINA	0.121(-0.909-0.333)	0.2632
	Lp(a)	0.0718 (-0.21-0.320)	0.352
	PAPP-A	0.0495 (-0.236-0.125)	0.432
AU	IL-6	0.142-0.282-0.566)	0.5123
	LDH	0.0392 (-0.150-0.228)	0.6846
	LEPTINA	0.100 (-0.172-0.373)	0.472
	Lp(a)	0.0498 (-0.392-0.121)	0.328
	PAPP-A	0.0352 (-0.242-0.352)	0.415
IL-6	LDH	0.103 (-0.309-0.392)	0.864
	LEPTINA	0.0415 (-0.309-0.392)	0.864
	Lp(a)	0.163 (-0.0852-0.214)	0.367
	PAPP-A	0.183 (-0.0321-0.284)	0.534
LDH	LEPTINA	0.0611 (-0.18-0.240)	0.504

Tabla 20. Comparativa AUC biomarcadores predictores de PE en el primer trimestre.

- **Correlaciones en el primer trimestre**

Se han explorado las relaciones de dependencia entre los marcadores a estudio en el primer trimestre examinando las correlaciones de los diferentes marcadores entre sí de las 119 gestantes . Todas las correlaciones estadísticamente significativas con una $r > \pm 0,4$. se reflejan en tabla en orden decreciente según la magnitud de la correlación.

BM 1 (1T)	BM 2 (1T)	r	p	BM 1 (1T)	BM 2 (1T)	r	p
colesterol total	LDL-col	0,991	<0,001	IL-6	ácido úrico	0,463	<0,001
Calcio	Mg	0,833	<0,001	sFlt-1	ratio sFlt-1/PIGF	0,457	<0,001
ácido úrico	ALP	0,814	<0,001	cratinina	proteinas	0,454	<0,001
magnesio	proteínas	0,792	<0,001	glucosa	Tg	0,452	<0,001
albúmina	Mg	0,791	<0,001	proteinas	transferrina	0,452	<0,001
PCR	ALP	0,73	<0,001	IL-6	PCR	0,426	<0,001
colesterol total	Mg	0,728	<0,001	leptina	Mg	0,414	0,044
TAS	LDH	0,689	<0,001	leptina	FG creatinina	0,409	<0,001
cratinina	Mg	0,641	<0,001	PCR	hierro	-0,418	<0,001
ALT	AST	0,639	0	FG cys C	Mg	-0,418	0,017
Calcio	proteinas	0,61	<0,001	FG creatinina	proteinas	-0,433	<0,001
Calcio	transferrina	0,599	<0,001	FG creatinina	transferrina	-0,476	<0,001
FG creatinina	calcio	0,565	<0,001	FG cys C	calcio	-0,521	<0,001
creatinina	calcio	0,552	<0,001	ALP	lp(a)	-0,594	0,0015
sFlt-1	lp(a)	0,551	<0,001	ALP	hierro	-0,606	0,017
TAS	neutrofilos	0,536	<0,001	FG creatinina	Mg	-0,7	<0,001
TAS	leucocitos	0,52	<0,001	ALP	urea	-0,77	<0,001
magnesio	Urea	0,515	0,003	PIGF	ratio sFlt-1/PIGF	-0,774	<0,001
PCR	ácido úrico	0,468	<0,001	cratinina	FG creatinina	-0,891	<0,001

Tabla 21. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del primer trimestre.

Así mismo se estudiaron las relaciones de dependencia entre los biomarcadores a estudio con los factores de riesgo de desarrollar PE (edad, IMC, PAM) en la población de riesgo de PE. En la tabla 21 se muestran todas las correlaciones significativas encontradas en orden decreciente según la magnitud de la correlación.

FACTOR DE RIESGO	BIOMARCADOR (1T)	r	p
PAM	Transferrina	0,397	<0,001
	Cistatina C	0,335	0,002
	ALT	0,299	0,001
	PCR	0,292	0,003
	IMC	0,288	0,002
	Ácido úrico	0,258	0,007
	Lp(a)	0,22	0,045
	FG CKD-EPI Cistatina C	-0,305	0,005
IMC	PCR	0,455	<0,001
	Leptina	0,374	0,001
	Cistatina C	0,369	0,001
	Triglicéridos	0,333	<0,001
	Lp(a)	0,323	0,004
	FG CKD-EPI Cistatina C	-0,305	0,005
	HDL-col	-0,396	<0,001
	Bilirrubina total	-0,445	<0,001
EDAD	FG CKD-EPI Cistatina C	-0,231	0,027
	FG CKD-EP creatinina	-0,434	<0,001

Tabla 22. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del segundo trimestre y variables clínicas.

4.2.2. Análisis de los biomarcadores en el segundo trimestre de gestación

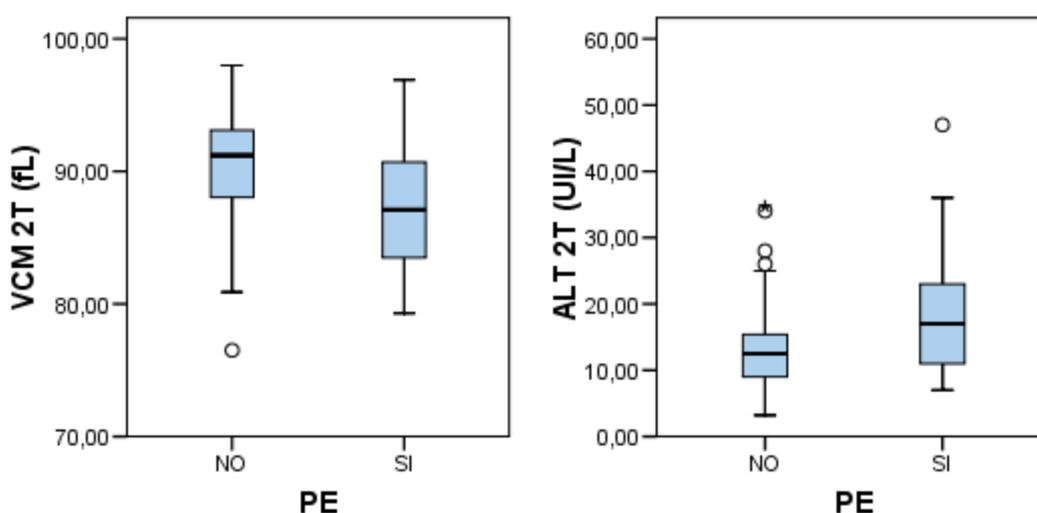
- Análisis de los biomarcadores de rutina del segundo trimestre

Al analizar los resultados de los parámetros bioquímicos y hematológicos en este trimestre de gestación en el grupo que desarrolló PE y el que no sólo se encontraron diferencias significativas VCM ($p=0,022$), la creatinina ($p=0,047$) y AST ($p=0,002$) que se reflejan en la tabla 22.

MARCADORES DE RUTINA EN EL SEGUIMIENTO DE LA MUJER EMBARAZADA 2ª analítica (2º trimestre)			
	Grupo 1(PE)	Grupo 2 (no PE)	valor p
HEMOGRAMA			
Hemoglobina (g/dL)	11,94 ±1,06	11,39±0,99	0,937
Hematocrito (%)	36,67 ±3,13	34,57±2,83	0,953
Volumen corpuscular medio (fL)	87,1[83,3-91,5]	91,2[88-93,1]	0,022
Recuento de plaquetas (x10 ³ /μl)	255,16±64,03	244,53±75,94	0,483
Recuento de leucocitos totales (x10 ³ /μl)	11,5±2,34	10,04±2,07	0,459
Recuento de neutrófilos (x10 ³ /μl)	9,01[6,23-9,62]	6,66[5,775-8,34]	0,066
Recuento de linfocitos (x10 ³ /μl)	2,2[1,86-2,7]	2,04[1,69-2,6]	0,593
BIOQUÍMICA GENERAL			
Glucosa (mg/dL)	83,50[78,25-91,00]	79,4[73-88,5]	0,082
Creatinina (mg/dL)	0,55±0,18	0,59±0,14	0,047
Bilirrubina (mg/dL)	0,29±0,17	0,203±0,12	0,168
Ácido úrico (mg/dL)	3,6±0,99	3,34±0,70	0,068
ALT (UI/L)	17[10,5-23]	12,5[9-15,7]	0,021
AST (UI/L)	23,15±22,75	15,75±5,28	0,002

Tabla 23. Comparación de los parámetros bioquímicos y hematológicos de rutina en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el segundo trimestre de gestación. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]

Los diagramas de cajas que nos permite visualizar la distribución de los resultados de los biomarcadores en los que se encontraron diferencias entre el grupo 1 y 2 (Figura 15).



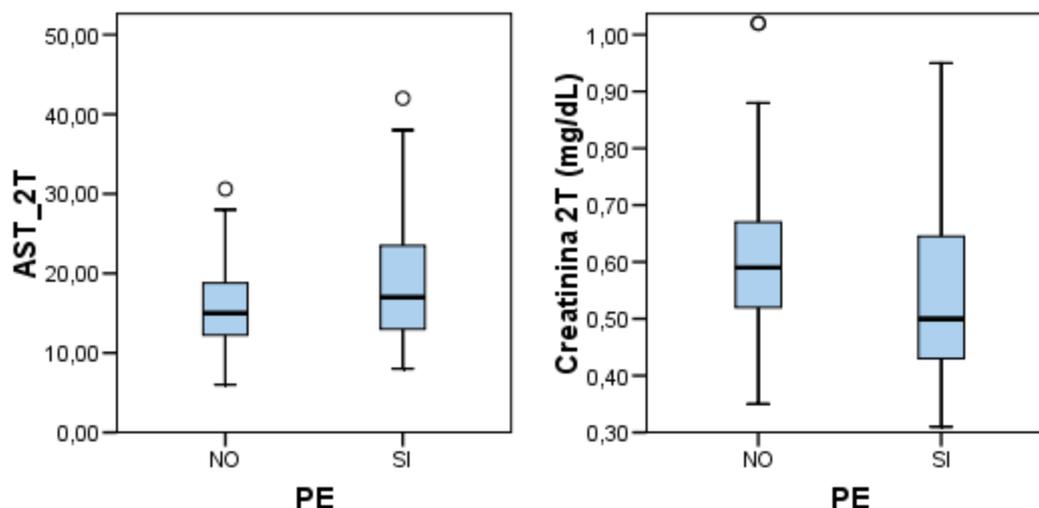


Figura 15. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores de rutina que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupo que desarrolló PE y el que no en el segundo trimestre de gestación

- **Análisis de los biomarcadores propuestos para el estudio de PE en el segundo trimestre**

Respecto a los marcadores estudiados como posibles predictores de PE encontramos diferencias significativas entre grupo 1 y 2 para la PCR ($p=0,033$), PIGF MoM ($p=0,033$) y Cistatina C ($p=0,026$). (Tabla 23 y Figura 16).

MARCADORES PROPUESTOS COMO PREDICTORES DE PREECLAMPSIA EN EL 2ºtrimestre			
	grupo 1 (PE)	grupo 2 (no PE)	valor p
BIOQUÍMICA GENERAL			
Albúmina (g/dL)	3,89±0,75	4,49±0,80	0,72
Hierro (mg/dL)	99,9[54,5-132,3]	104,8[84,9-132,25]	0,503
Ferritina (mg/dL)	28,1±22,62	34,52±23,99	0,601
Transferrina (mg/dL)	440,33±48,23	361,92±79,50	0,787
Proteínas totales (g/dL)	7,50±0,76	7,40±1,19	0,393
PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA			
ALP (UI/L)	20,85±11,79	65,33±27,92	0,362
LDH (UI/L)	210±52,03	186,80±42,68	0,332
MARCADORES DE INFLAMACIÓN			
PCR (mg/dL)	1,33[0,83-2,01]	0,67[0,34-1,16]	0,033
IL-6 (pg/mL)	4,10[2,76-5,23]	3,28[2,36-4,46]	0,129
MARCADORES DE FUNCIÓN PLACENTARIA			
β-hCG (µg/mL)	5,50[3,85-8,65]	6,40[4,5-12,27]	0,357
β-hCG MoM	1,02±0,68	1,46±1,37	0,280
PAPP-A (mUI/L)	9304,5 [8650-13031,8]	13646,9[9713-19490]	0,061

PAPP-A MoM	0,85±0,55	1,21±0,88	0,061
MARCADORES REGULADORES DE LA ANGIOGÉNESIS			
PIGF (pg/mL)	86,4±45,53	133,69±64,91	0,461
PIGF MoM	0,68±0,36	1,06±0,51	0,033
sFlt-1 (pg/mL)	1459[795,25-1778]	1667[1251-1882]	0,21
sFlt-1 MoM	0,93±0,63	1,02±0,44	0,210
Ratio sFlt-1:PIGF	32,75±41,63	15,96±11,57	0,499
FUNCIÓN RENAL			
Urea (mg/dL)	18,52±4,00	21,40±5,77	0,233
FG estimado creatinina (mL/min)	129,82[112,88-137,18]	120,83[114,41-127,97]	0,172
Cistatina C (mg/L)	0,76±0,33	0,69±0,13	0,026
FG estimado Cistatina C (mL/min)	115,57±16,9	117,87[111,86-123,43]	0,715
MARCADORES DE DISLIPEMIA			
Colesterol total (mg/dL)	276,04±254,77	259,35±47,01	0,518
Colesterol HDL (mg/dL)	84,4[77,2-89,5]	87,9[73,4-101,5]	0,734
Colesterol LDL (mg/dL)	141,36±49,42	125,25±104,36	0,821
Triglicéridos (mg/dL)	259,02±117,60	189,03±66,68	0,452
Lipoproteína (a) (mg/dL)	32[3,94-65,9]	13,95[6,53-35,9]	0,606
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO			
Capacidad antioxidante total del suero (mmol/L)	1,64[1,49-1,78]	1,63[1,5-1,76]	0,947
Homocisteína (µmol/L)	7,57±2,71	6,52±1,33	0,075
MARCADORES DE REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOCRINA			
TSH (µIU/mL)	2,89±1,24	2,53±1,40	0,912
MINERALES			
Calcio (mg/dL)	10,89[9,46-12,3]	10,55[9,96-11,26]	0,451
Magnesio (mg/dL)	2,08±0,22	2,05±0,29	0,525

Tabla 24. Comparación de los marcadores propuestos como predictores de PE en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el segundo trimestre de gestación. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ].

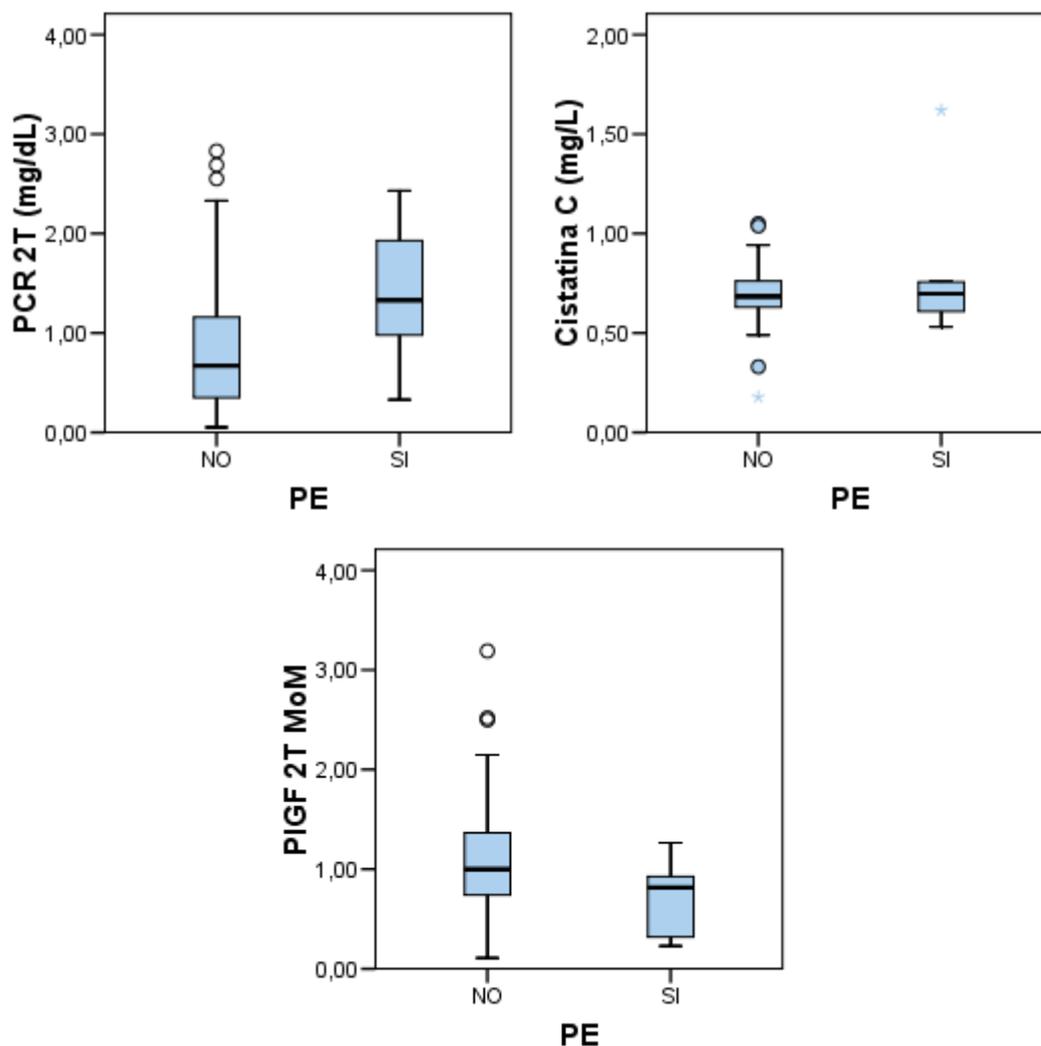


Figura 16. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores predictores de PE en el grupo que desarrolló PE y el que no en el segundo trimestre de gestación.

- **Análisis del rendimiento diagnóstico de los biomarcadores significativos del segundo trimestre**

Se analizó el rendimiento diagnóstico de cada marcador predictor de PE que era capaz de discriminar entre el grupo de riesgo que desarrolló PE (grupo 1) y grupo de riesgo que no la desarrolló (grupo 2) en el segundo trimestre de gestación. Se obtuvo para cada una de las variables el área bajo la curva (AUC) con su correspondiente valor de significación, así como el intervalo de confianza. Los resultados aparecen reflejados en la tabla y las gráficas.

VARIABLE	AUC	Valor p	IC95%	
			LÍMITE SUPERIOR	LÍMITE INFERIOR
VCM	0,667	0,022	0,531	0,818
Creatinina	0,372	0,076	0,207	0,537
ALT	0,667	0,021	0,523	0,812
AST	0,661	0,159	0,450	0,772
PCR	0,718	0,033	0,559	0,877
Cistatina C	0,453	0,649	0,237	0,699
PIGF MoM	0,715	0,033	0,557	0,873

Tabla 25. Valores del área bajo la curva (AUC), valor de p e intervalos de confianza de los biomarcadores para la predicción de preeclampsia en el segundo trimestre.

La creatinina y la Cistatina C tuvieron un AUC <0,5, y el AST contenía el valor el 0,5 en el IC 95%, por tanto son test sin capacidad discriminativa cuando se usaban de forma aislada. Mediante análisis de curvas ROC obtuvimos los siguientes áreas bajo la curva (Figura 17).

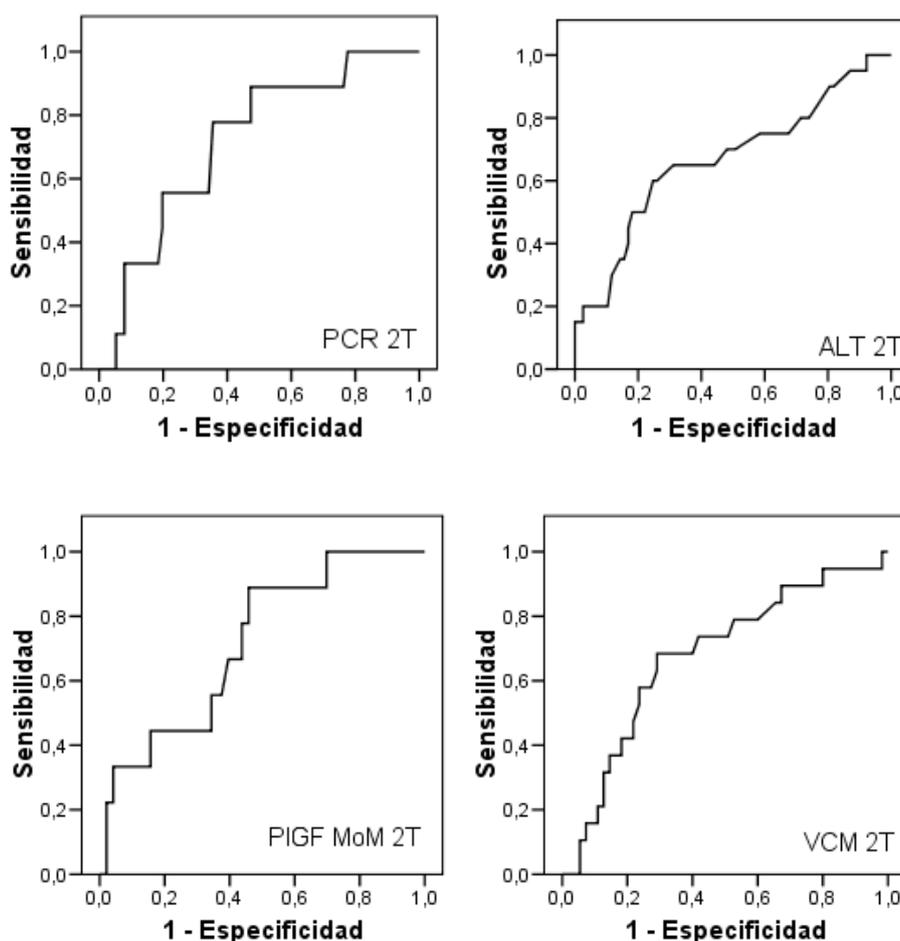


Figura 17. Curva ROC para la predicción de PE de los biomarcadores en el segundo trimestre de gestación

RESULTADOS

Tras el análisis de las curvas ROC, se calculó el punto de corte, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para el PIGF MoM, PCR, ALT y VCM que fueron los test que mostraron capacidad discriminativa entre los individuos sanos y los que desarrollan PE, debido a que mostraron un área bajo la curva o AUC > 0,5 con un valor p estadísticamente significativo ($p < 0,05$). Así mismo se determinó el índice de Youden que nos permitió determinar el cut off óptimo del biomarcador en cuestión.

	Cut off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	I.Youden	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
PCR (mg/dL)	0,96	77,7	64,4	0,42	20,5	96,1	35,6
ALT (UI/mL)	15,7	60	75	0,350	20,6	79,3	25
VCM	88,5	68	70	0,39	44,8	86,6	30
PIGF MoM	0,95	88,8	54,1	0,43	13,7	96,2	46

Tabla 26. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y tasa de falsos positivos (TFP) de los biomarcadores para la detección de PE en el segundo trimestre de gestación.

Posteriormente se realizó un análisis comparativo entre las variables cuya AUC resultó significativa. Para ello se compararon los estadísticos c de cada una de estos marcadores mediante la diferencia de áreas, según lo descrito por DeLong y cols (204) pero no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en ningún caso (tabla 26) por lo que ningún biomarcador parece superior que los demás.

BM 2T	BM 2T	DIFERENCIA AUC BM 2T	
		Valor (IC95%)	p
PCR	PIGF	0,0133(-0,240-0,267)	0,9186
	VCM	0,0265(-0,227-0,280)	0,8377
	ALT	0,116(-0,225-0,456)	0,5056
PIGF	VCM	0,0398(-0,309-0,389)	0,8234
	ALT	0,102(-0,212-0,416)	0,5231
VCM	ALT	0,142(-0,260-0,544)	0,4881

Tabla 27. Comparativa AUC biomarcadores predictores de PE del segundo trimestre

- **Correlaciones en el segundo trimestre**

Al igual que con los biomarcadores del primer trimestre, se han explorado las relaciones de dependencia entre los marcadores a estudio en el segundo trimestre examinando las

correlaciones de los diferentes marcadores entre sí de las 119 gestantes. Todas las correlaciones estadísticamente significativas con una $r > \pm 0,4$, se reflejan en tabla en orden decreciente según la magnitud de la correlación.

BM 1 (2T)	BM 2 (2T)	r	p	BM 1 (2T)	BM 2 (2T)	r	p
colesterol	LDL col	0,873	<0,001	Magnesio	LDL col	0,549	<0,001
calcio	proteinas	0,828	<0,001	albúmina	colesterol	0,544	<0,001
albúmina	proteinas	0,818	<0,001	sFlt-1	ratio sFlt-1/PIGF	0,538	<0,001
creatinina	calcio	0,76	<0,001	ALP	TAS	0,525	0,027
albúmina	calcio	0,744	<0,001	ALP	hierro	0,512	0,02
ALP	LDL col	0,732	0,003	albúmina	transferrina	0,502	<0,001
Magnesio	proteinas	0,729	<0,001	albúmina	LDL col	0,499	<0,001
ALP	colesterol	0,727	0,003	creatinina	colesterol	0,463	<0,001
creatinina	proteinas	0,675	<0,001	sFlt-10	PAPP-A	0,445	<0,001
calcio	magnesio	0,664	<0,001	IL-6	PCR	0,443	<0,001
ALT	AST	0,661	<0,001	Calcio	HDL-col	0,422	<0,001
calcio	transferrina	0,661	<0,001	creatinina	Ácido úrico	0,416	<0,001
albúmina	magnesio	0,657	<0,001	colesterol	HDL-col	0,402	<0,001
calcio	colesterol	0,645	<0,001	FG creatinina	calcio	- 0,423	<0,001
creatinina	magnesio	0,641	<0,001	FG creatinina	Ácido úrico	- 0,425	<0,001
Magnesio	transferrina	0,641	<0,001	IL-6	hierro	- 0,426	<0,001
colesterol	proteinas	0,618	<0,001	IL-6	HDL-col	- 0,457	<0,001
ALP	transferrina	0,613	0,007	albúmina	FG creatinina	- 0,488	<0,001
colesterol	magnesio	0,609	<0,001	FG creatinina	colesterol	- 0,512	<0,001
ALP	magnesio	0,593	0,02	FG creatinina	transferrina	- 0,534	<0,001
creatinina	transferrina	0,576	<0,001	FG creatinina	magnesio	- 0,548	<0,001
albúmina	creatinina	0,565	<0,001	FG creatinina	proteinas	- 0,567	<0,001
creatinina	urea	0,562	<0,001	FG creatinina	urea	- 0,593	<0,001
Magnesio	LDL col	0,558	<0,001	creatinina	FG creatinina	- 0,909	<0,001
colesterol	transferrina	0,552	<0,001	Cys C	FG Cys C	- 0,956	<0,001

Tabla 28. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del segundo trimestre

Así mismo, se estudiaron las relaciones de dependencia entre los biomarcadores a estudio con los factores de riesgo de desarrollar PE (edad, IMC, PAM) en la población de riesgo de PE. En la tabla 28, se muestran todas las correlaciones significativas encontradas en orden decreciente según la magnitud de la correlación.

FACTOR DE RIESGO	BIOMARCADOR	r	p
PAM	IL-6	0,237	0,016
	PCR	0,260	0,016
IMC	b-hCG	-0,343	<0,001
	IL-6	0,259	0,009
	FG cysC	-0,212	0,047
	PCR	0,517	<0,001
	glucosa	0,320	0,002
	TG	0,282	0,014
Edad	FG crea	-0,367	<0,001
	colesterol	0,237	0,038

Tabla 29. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del segundo trimestre y variables clínicas.

4.2.3. Análisis de los biomarcadores en el tercer trimestre de gestación

- Análisis de los biomarcadores de rutina del tercer trimestre

De rutina en el tercer trimestre de gestación se realiza un hemograma y la coagulación. En relación a éstos se encontró diferencia estadísticamente significativa de nuevo en el valor del VCM (p=0,009).

MARCADORES DE RUTINA EN EL SEGUIMIENTO DE LA MUJER EMBARAZADA			
3ª analítica (3ºtrimestre)			
	grupo 1(PE)	grupo 2 (no PE)	valor p
HEMOGRAMA			
Hematíes (10 ⁶ /μL)	4,1[3,9-4,6]	4[3,8-4,2]	0,106
Hemoglobina (g/dL)	11,9[11,2-12,3]	11,9[11,22-12,37]	0,965
Hematocrito (%)	36,5[33,9-37,3]	36,20[34,02-37,82]	0,799
Volumen corpuscular medio (fL)	83,3[81,5-89,6]	89,8[85,25-93,5]	0,009
Recuento de plaquetas (x103/μL)	219,64 ± 76, 12	236 ± 72,16	0,778
Recuento de leucocitos totales (x103/μL)	11,162,97	10,34±3,01	0,411
Recuento de neutrófilos (x103/μL)	7,842,89	7,13±2,42	0,166
Recuento de linfocitos (x103/μL)	2,300,48	2,34±0,84	0,2
COAGULACIÓN			
TP (seg)	10,2[9,75-10,85]	10,1[9,87-10,5]	0,428
Actividad de protrombina (%)	108[98,5-128]	100[100-100]	0,23
INR	0,81[0,87-0,97]	0,91[0,86-0,93]	0,41
TTPa (seg)	28,2[26,5-30,45]	28,5[27,07-30]	0,859
Fibrinogeno (mg/dL)	518[473,5-561,5]	519[485-562]	0,091

Tabla 30. Comparación de los parámetros bioquímicos y hematológicos de rutina en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el segundo trimestre de gestación. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]

- Análisis de los biomarcadores propuestos para el estudio de PE en el tercer trimestre**

Al comparar los marcadores propuestos para el estudio de preeclampsia en el tercer trimestre encontramos diferencias estadísticamente significativas en: BT ($p<0,001$), AST ($p<0,001$), LDH ($p<0,001$), PLGF ($p=0,001$), sFlt-1 ($p=0,002$), ratio sFlt-1/PIGF, cistatina C, TG y TAS (tabla 30)

MARCADORES PROPUESTOS COMO PREDICTORES DE PREECLAMPSIA EN EL 3ºtrimestre			
	grupo 1(PE)	grupo 2 (no PE)	valor p
BIOQUÍMICA GENERAL			
Glucosa (mg/dL),	85,5[75,25-109,57]	76[70-90]	0,093
Albúmina (g/dL)	16[14,12-23,27]	3,94±0,54	0,97
Proteínas totales (g/dL)	7,04±0,83	6,96±0,73	0,679
Hierro (mg/dL)	106,08±50,51	100,63±52,08	0,548
Ferritina (mg/dL)	21,3±13,49	23,07±15,14	0,759
Transferrina (mg/dL)	397,45±129,28	422±66,56	0,313
PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA			
Bilirrubina (mg/dL),	0,2[0,13-0,3]	0,08[0,04-0,115]	<0,001
ALT (UI/L),	16[14,12-23,27]	13,25[9,37-17]	0,011
AST (UI/L),	25[21,62-29,12]	12[7-16]	<0,001
ALP (UI/L),	153,77±52,55	120±33,69	0,389
LDH (UI/L)	253[214-301]	186[160-212]	<0,001
MARCADORES DE INFLAMACIÓN			
PCR (mg/dL)	0,465[0,34-0,697]	0,495[0,38-1]	0,855
IL-6 (pg/mL)	4,45[3,76-4,85]	4,3[3,38-6,02]	0,839
MARCADORES DE FUNCIÓN PLACENTARIA			
β-hcg (μg/mL)	10,15[7,82-16,30]	7,8[4,8-15,95]	0,849
β-hcg MoM	1,51±1,02	1,44±,17	0,510
PAPP-A (mUI/mL)	20310,7[17754,5-30962]	24219[18642-29394]	0,51
PAPP-A MoM	1,10±0,41	1,26±1,91	0,849
MARCADORES REGULADORES DE LA ANGIOGENESIS			
PIGF (pg/mL)	38,90[30,25-55,15]	178,10[88,6-318,2]	0,001
PIGF MoM	0,46±0,7	1,54±1,73	0,001
sFlt-1 (pg/mL)	4233[2963-4906]	2145,5[1565-2518]	0,002
sFlt-1 MoM	1,97±1,03	1,08±0,51	0,002
ratio sFlt-1:PIGF	88,87[44,75-129,02]	10,20[5,37-27,49]	<0,001
MARCADORES DE FUNCIÓN RENAL			
Urea (mg/dL)	21,39±5,71	20,29±5,71	0,622
Creatinina (mg/dL)	0,625[0,53-0,72]	0,535[0,49-0,59]	0,13

RESULTADOS

FG estimado creatinina (mL/min)	118,91[110,67]	123,71[118,4-130,4]	0,641
Cistatina C (mg/L)	0,81±0,18	0,74±0,19	0,047
FG estimado Cistatina C (mL/min)	109,56±14,52	115,37±15,67	0,624
MARCADORES DE DISLIPEMIA			
Colesterol total (mg/dL)	298,73±24,83	284,32±70,33	0,084
Colesterol HDL (mg/dL)	79,63±14,83	75,69±22,47	0,252
Colesterol LDL (mg/dL)	151,83±32,18	153,36±58,97	0,318
Triglicéridos (mg/dL)	336,36±45,90	266,74±86,78	0,004
Lipoproteína (a) (mg/dL)	24,75[13,23-32,17]	13[5,92-32,57]	0,321
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO			
Capacidad antioxidante total del suero (mmol/L)	1,53[1,45-1,55]	1,45[,37-1,51]	0,056
Ácido úrico (mg/dL)	5,36±1,12	4,17±0,88	0,18
Homocisteína (µmol/L)	5,68±0,87	5,15±1,34	0,084
MINERALES			
Calcio (mg/dL)	10,7[10,30-11,01]	10,28[9,71-10,91]	0,211
Magnesio (mg/dL)	2,12±0,15	1,90±0,24	0,151

Tabla 31. Comparación de los marcadores propuestos como predictores de PE en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el trimestre de gestación. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]

- **Análisis del rendimiento diagnóstico de los biomarcadores significativos del tercer trimestre**

Se analizó el rendimiento diagnóstico de cada marcador predictor de PE que era capaz de discriminar entre el grupo de riesgo que desarrolló PE (grupo 1) y grupo de riesgo que no la desarrolló (grupo 2) en el tercer trimestre de gestación. Se obtuvo para cada una de las variables el área bajo la curva (AUC) con su correspondiente valor de significación, así como el intervalo de confianza. Los resultados aparecen reflejados en la tabla y las gráficas.

VARIABLE	AUC	Valor p	IC95%	
			LÍMITE SUPERIOR	LÍMITE INFERIOR
VCM	0,698	0,009	0,556	0,830
Bilirrubina total	0,789	<0,001	0,667	0,912
AST	0,929	<0,001	0,875	0,982
LDH	0,8	<0,001	0,678	0,914
PIGF	0,841	<0,001	0,684	0,999
sFlt-1	0,791	0,002	0,624	0,958
Ratio sFlt-1/PIGF	0,877	<0,001	0,774	0,981
Cistatina C	0,631	0,162	0,463	0,799

Tabla 32. Valores del área bajo la curva (AUC), valor de p e intervalos de confianza de los biomarcadores para la predicción de preeclampsia en el tercer trimestre.

De todos los biomarcadores que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos principales de estudio (desarrollo de PE vs No desarrollo de PE) la cistatina C no presentó significancia estadística por lo que se consideraron test sin capacidad discriminativa.

Tras el análisis de las curvas ROC, se calculó el punto de corte, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). De todos los marcadores analizados, AST fue el analito que mostró mejor capacidad discriminativa entre individuos sanos y los que desarrollan PE debido a que mostró el mayor AUC con un valor de p estadísticamente significativo ($p < 0,05$). Así mismo se determinó el índice de Youden, con el que obtuvimos el cut off óptimo de cada biomarcador.

	Cut off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	I. Youden	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
VCM (fL)	83,45	52%	85%	0,37	85,9	52,6	15
Bilirrubina total (mg/dL)	0,125	78,9	78,6	0,57	78,6	78,9	21,4
AST (UI/L)	20,5	90	88	0,78	88,8	90	12
LDH (UI/L)	213	78,9	77,9	0,56	78	78	22,1
PIGF (pg/mL)	<62,15	88,8	86,7	0,75	86,7	88,8	13,3
sFlt-1 (pg/mL)	2839,5	81,8	81,2	0,63	81,2	81,8	18,8
Ratio sFlt-1/PIGF	>38	88,8	82	0,71	82	88,8	18

Tabla 33. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y tasa de falsos positivos (TFP) de los biomarcadores para la detección de PE en el tercer trimestre de gestación.

Se realizó un análisis comparativo entre las variables cuya AUC resultó significativa mediante la comparación de los estadísticos c de cada una de estas variables examinando la diferencia de áreas, según lo descrito por DeLong y cols (204). En este caso sí se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre algunos de los biomarcadores (tabla 33).

		DIFERENCIA DE AUC BM 3T	
BM 1 (3T)	BM 2 (3T)	Valor (IC95%)	p
AST	BT	0,239(0,0414-0,437)	0,0178
	LDH	0,147(0,0156-0,278)	0,0283
	PIGF	0,0869(-0,0879-0,262)	0,330
	sFlt-1	0,104(-0,0632-0,271)	0,228
	VCM	0,282 (0,0469-0,517)	0,0187
BT	LDH	0,0926(-0,0933-0,279)	0,3290
	PIGF	0,152(-0,139-0,444)	0,3052
	sFlt-1	0,135(-0,139-0,444)	0,3052
	VCM	0,0427(-0,311-0,397)	0,8130
LDH	PIGF	0,0598(-0,160-0,279)	0,5929
	sFlt-1	0,0427(-0,104-0,189)	0,5670
	VCM	0,135(-0,141-0,412)	0,3371
PIGF	sFlt-1	0,0171(-0,246-0,280)	0,8987
	VCM	0,195(-0,0828-0,473)	0,01687
sFlt-1	VCM	0,178(-0,122-0,478)	0,2441

Tabla 34. Comparativa AUC biomarcadores predictores de PE tercer trimestre

- **Correlaciones en el tercer trimestre**

De igual manera que hicimos con los biomarcadores del primer y segundo trimestre estudiamos las relaciones de dependencia entre los marcadores a estudio del tercer trimestre examinando las correlaciones de estos biomarcadores entre sí. Todas las correlaciones estadísticamente significativas con una $r > \pm 0,4$ se plasman en tabla en orden decreciente según la magnitud de la correlación.

BM 1 (3T)	BM 2 (3T)	r	p	BM 1 (3T)	BM 2 (3T)	r	p
calcio	Albúmina	0,881	<0,001	colesterol	albúmina	0,481	<0,001
albúmina	Proteínas	0,871	<0,001	colesterol	proteínas	0,477	<0,001
colesterol	LDL-colesterol	0,856	<0,001	calcio	HDL-col	0,464	<0,001
calcio	Proteínas	0,792	<0,001	calcio	transferrina	0,451	<0,001
calcio	Magnesio	0,752	<0,001	CyscC	creatinina	0,436	<0,001
albúmina	Mg	0,718	<0,001	Creatinina	FG CysC	0,436	<0,001
sFlt-1	ratio sFLT-1/PIGF	0,672	<0,001	AST	BT	0,402	<0,001
calcio	Creatinina	0,644	<0,001	CyscC	calcio	0,4	0,002
creatinina	Mg	0,625	<0,001	FG creatinina	urea	-0,402	<0,001
albúmina	Creatinina	0,604	<0,001	b-hcgb	PCR	-0,411	0,001
creatinina	albúmina	0,604	<0,001	PLGF	sFlt-1	-0,436	<0,001
creatinina	proteínas	0,566	<0,001	FG creatinina	proteínas	-0,455	<0,001
albúmina	´HDL-col	0,563	<0,001	FG creatinina	Mg	-0,622	<0,001
calcio	FG crea	0,504	<0,001	PLGF	ratio sFLT-1/PIGF	-0,949	<0,001
PCR	IMC	0,485	<0,001	CyscC	FG CysC	-0,98	<0,001
ALT	AST	0,482	<0,001				

Tabla 35. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del tercer trimestre.

Así mismo se estudiaron las relaciones de dependencia entre los biomarcadores a estudio del tercer trimestre con los factores de riesgo de desarrollar PE (edad, IMC, PAM) en la población de riesgo de PE. En la tabla 35 se muestran todas las correlaciones significativas encontradas en orden decreciente según la magnitud de la correlación.

FACTOR DE RIESGO	BIOMARCADOR	r	p
PAM	PCR	0,324	0,009
IMC	IL-6	0,356	0,001
	PCR	0,485	<0,001
Edad	FG crea	-0,58	<0,001

Tabla 36. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del tercer trimestre y variables clínicas.

4.2.4. Evaluar la influencia de las características clínicas y demográficas de los pacientes sobre los marcadores propuestos como predictores de PE.

Se llevó a cabo una comparativa de medias para estudiar la influencia de los factores de riesgo sobre los marcadores propuestos como predictores de PE en la población de riesgo. En la tabla 36 se reflejan los factores de riesgo sí mostraron diferencias significativas con algunos de los marcadores propuestos como predictores de PE.

IMC (kg/m ²)			
Biomarcador	<30	>30	p
HDL-col 1T	80,9±18,2	59,1±17,6	<0,001
HDL-col 2T	102,0±95	77±15,2	0,02
TG 2T	169 [136-246]	239,3[153-302]	0,03
TG 3T	264[198-332]	331[1264-341]	0,03
EDAD (años)			
Biomarcador	<35	>35	p
FG CysC	129,1±14,6	124±10,9	0,04
FG crea 1T	121,4±15	114±11,5	0,01
FG crea 2T	123,2±16,2	116,95±20,2	<0,001
FG crea 3T	124,2±17,3	114,9±12	0,002
colesterol 1T	204[190-231]	230,2[191-243]	0,023
PAS (mmHg)			
Biomarcador	<120	>120	p
Leptina 1T	5,61[4,4-6,5]	6,42[5,4-9,3]	0,01
Lp(a) 1T	5,5[4,1-9,2]	12,35[5,92-33]	0,006
Cys C 1T	0,54±0,11	0,61±0,07	0,013
PAD (mmHg)			
Biomarcador	<80	>80	p
FG CysC 1T	131±16,5	124±8,7	0,01
PCR 1T	0,58[0,22-1,2]	0,79[0,56-1,3]	0,029
PCR 2T	0,57[0,31-1,16]	0,87[0,6-1,553]	0,04
PCR 3T	0,42[0,27-0,74]	0,57[0,41-1,04]	0,039
FUMADORA			
Biomarcador	NO	SI	p
PIGF 1T	22,8[16,4-28]	32,4[23,9-40,7]	0,003
DIABETES			
Biomarcador	NO	SI	p
sFlt-1 1T	1253±486	2127±226,9	0,014
MULTIPARIDAD			
Biomarcador	NO	SI	p
sFlt-1 1T	1372±520	1072±419	0,01
sFlt-1 2T	1690[1278-2061]	1428[976-1776]	0,042

Tabla 37. distribución de los marcadores propuestos en función de los factores de riesgo de PE.

4.3. OBJETIVO 3

Diseñar un modelo de predicción de riesgo de PE con biomarcadores y variables clínicas. Conocer su exactitud diagnóstica en un grupo de gestantes de alto riesgo a priori para el desarrollo de este síndrome.

4.3.1. Modelo predictivo del primer trimestre

Para elaborar un modelo que predijese la probabilidad o riesgo de que un paciente se clasificase en el grupo 1 (desarrollo futuro de PE) de nuestra población de estudio, es decir, que presentase un riesgo de desarrollar PE, realizamos un análisis de regresión logística binaria. Para la elaboración del modelo se consideró como variable dependiente el diagnóstico de preeclampsia, y como variables explicativas variables clínicas y biomarcadores en suero determinados en el primer trimestre de gestación.

Se realizó un análisis multivariado de regresión logística donde se incluyeron en un principio todas las variables con una $p < 0,15$ en el análisis univariado. Posteriormente se eliminaron del modelo los siguientes biomarcadores: glucosa, albúmina, ferritina, ALT, AST, LDH, PCR, PAPP-A en MoM, ácido úrico, leptina, y las variables clínicas IMC, PE previa, HTA crónica, diabetes debido a que no mejoraban el rendimiento diagnóstico del conjunto. Se trató de obtener el modelo más reducido posible que explicase los datos, sin compromiso del rendimiento diagnóstico. Las variables incluidas en el modelo final fueron Lipoproteína (a) e IL-6, variables que tuvieron significación estadística y se consideraron clínicamente importantes para el modelo.

El modelo de regresión logística fue estadísticamente significativo, $X^2 = 32,29$, $p < 0,0005$. En la regresión logística, R^2 es un dato muy útil, que describe la fracción de la variabilidad en la respuesta que las variables pueden explicar y cuanto más alto mejor es el modelo. Según el coeficiente de determinación obtenido, R^2 de Cox y Snell=0,329 y R^2 de Nagelkerke=0,579, entre un 32,9 y 57,9 % de la variación de la variable dependiente es explicada por las variables incluidas en el modelo. Por otro lado, el porcentaje de clasificación correcta de los pacientes usando este modelo fue del 91,4%.

La ecuación del modelo de regresión logística escrita sería: $\text{logit}(P) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k$, donde P es la probabilidad un acontecimiento, y X es la concentración de cada biomarcador de las k variables.

RESULTADOS

Los resultados finales del análisis de regresión logística, que muestra el coeficiente b de cada variable, su error estándar, el valor p asociado al contraste de hipótesis (siendo $H_0=B=0$), . Seguidamente aparece Exp (B) que corresponde a la OR de la variable analizada con la dependiente predicha.

Variable	Coeficiente β	Error estándar (ET)	Valor p	Exp (B) OR	IC95%	
					Límite inferior	Límite superior
LPA 1T	,071	,027	,009	1,073	1,018	1,132
IL6 1T	,450	,190	,018	1,568	1,080	2,276
constante	-5,373	1,233	,000	,005		

Tabla 38. Variables en la ecuación del Modelo 1T

Con los coeficientes no estandarizados obtenidos en el modelo de regresión logística se llegó la siguiente ecuación:

$$\text{logit}(p) = -5,373 + 0,071 Lp(a) + 0,450 IL6$$

Siendo: $\text{Logit}(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right)$, y donde p es la probabilidad de que un individuo presente la característica evaluada, es decir, la probabilidad de que un paciente desarrolle preeclampsia durante el embarazo.

Alternativamente la fórmula puede expresarse del siguiente modo:

$$\text{Probabilidad} = \frac{1}{1 + e^{-\text{Logit}(p)}}$$

Las unidades de las variables incluidas en la fórmula son las siguientes: Lipoproteína (a) (mg/dL) e IL-6 (pg/dL) .

Una vez elaborado el modelo, para comprobar su validez se estudió cómo se ajustaban a los datos al modelo. Para ello se evaluó el grado de calibración y de discriminación de cada uno de los modelos. Hosmer y Lemeshow desarrollaron una serie de test estadísticos para medir la bondad de ajuste, basados en la agrupación de las observaciones según las probabilidades estimadas por el modelo. El test de bondad de ajuste, o test de Hosmer-Lemeshow evalúa un aspecto de la validez de los modelos, la calibración, es decir, el grado en que la probabilidad predicha coincide con la probabilidad esperada. Valores de p no significativos ($p>0,05$) indican que lo observado se ajusta suficientemente a lo observado. Según los resultados obtenidos nuestro modelo tenía una buena calibración (tabla 38).

Por otro lado se se evaluó la capacidad de discriminación de los modelos mediante el cálculo del área bajo la curva (AUC) obteniendo el estadístico c o AUC (tabla 38). Esto permite evaluar el grado en el que el modelo distingue entre los individuos en los que ocurre el evento y los que no. Valores de p significativos ($p < 0,05$) indican un grado de discriminación adecuado. Según los resultados obtenidos, los dos modelos tienen una buena capacidad de discriminación.

MODELO	H-L	ESTADÍSTICO C	
		Valor (IC95%)	p
Modelo 1T	0,833	0,953 (0,894-1,012)	<0,001

Tabla 39. Test de Hosmer-Lemeshow (H-L) y estadístico c del modelos de regresión logística del 1º trimestre.

Así mismo se calculó el punto de corte óptimo del modelo para la detección del desarrollo de PE, así como su sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y TFP (tabla 39).

Cut off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
>0,189	91,6	94,2	73,3	98,5	5,7

Tabla 40. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del primer trimestre.

Posteriormente se evaluó su capacidad predictiva tanto para la preeclampsia precoz como para la tardía.

Tipo de PE	AUC		Cut-off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
	AUC (IC95%)	p						
Tardía	0,940 (0,885-0,995)	<0,001	0,1897	100	88	60	100	5,7
Precoz	0,893 (0,777-1,010)	0,001	0,279	83,3	92	55,5	98,5	5,7

Tabla 41. AUC, puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del primer trimestre para el diagnóstico de PE precoz y tardía.

Por otro lado se analizó su capacidad predictiva para detectar PE en función de la edad gestacional al parto.

Tipo de PE	AUC		Cut off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
	AUC (IC95%)	p						
PE parto <37 s	0,889 (0,673-1,105)	0,025	0,1340	100	83,3	85,7	100	16,6

RESULTADOS

PE parto <42 s	0,953 (0,894-1,012)	<0,001	0,1897	91,6	94,2	73,3	98,5	5,8
----------------	------------------------	--------	--------	------	------	------	------	-----

Tabla 42. AUC, puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo del primer trimestre para el diagnóstico de PE pretérmino y a término.

Comparación de la eficacia diagnóstica obtenida por el modelo predictivo propuesto con biomarcadores del primer trimestre y los marcadores bioquímicos propuestos como predictores de preeclampsia.

Variable	AUC	Error estándar	IC 95%
Modelo 1T	0,953	0,0605	0,894 - 1,012
Lp(a)	0,92	0,0641	0,847 - 0,983
AST	0,81	0,0920	0,715 - 0,896
PAPP-A	0,714	0,0884	0,581 - 0,847
PCR	0,687	0,0910	0,555 - 0,818
LDH	0,66	0,0994	0,549 - 0,779
Leptina	0,68	0,0969	0,563 - 0,798
IL-6	0,76	0,138	0,596 - 0,927
Ácido úrico	0,7	0,169	0,553 - 0,856

Tabla 43. Comparación áreas bajo la curva (AUC) del modelo predictivo vs parámetros bioquímicos predictores de PE del primer trimestre.

Variable	BM 1T	DIFERENCIA DE AUC	
		Valor (IC95%)	p
Modelo combinado 1T	AST	0,210(0,0475-0,373)	0,0114
	AU	0,361 (0,0598-0,662)	0,0188
	IL-6	0,350 (0,0620-0,637)	0,0172
	LDH	0,245 (0,0521-0,437)	0,0128
	LEPTINA	0,388(0,188-0,587)	<0,001
	LP(A)	0,0748(-0,0496-0,199)	0,0587
	PAPPA	0,163(-0,00446-0,331)	0,0564
	PCR	0,236(0,0673-0,405)	0,0061

Tabla 44. Diferencias de áreas al comparar el modelo predictivo de regresión logística con los biomarcadores predictores de PE del primer trimestre.

Prueba de cribado	AUC (IC95%)	p	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
Mejor marcador 1T -Lp(a)-	0,92 (0,847-0,983)	<0,001	100	71	42,8	100	29
Modelo 1t	0,953 (0,894-1,012)	<0,001	91,6	94,2	73,3	98,5	5,7

Tabla 45. Comparación capacidad predictiva mejor biomarcador predictivo vs Modelo predictivo 1T.

4.3.2. Modelo predictivo del segundo trimestre

Se realizó un análisis de regresión logística binaria en el que como variables explicativas se incluyeron las variables clínicas y biomarcadores en suero determinados en el segundo trimestre de gestación que tuvieron una $p < 0,15$ en el análisis univariado. Posteriormente se eliminaron del modelo los siguientes biomarcadores: glucosa, creatinina, ácido úrico, ALT, neutrófilos, VCM, PCR, IL-6, PAPP-A, PIGF, Cístatina C, Homocisteína y las variables clínicas, PE previa, HTA crónica, diabetes, debido a que no cumplieron con los criterios que establecimos para la aceptación de las variables en los modelos predictivos. Las variables incluidas en el modelo final fueron AST del segundo trimestre como parámetro bioquímico, y como variable materna el IMC al inicio de la gestación ya que fueron las únicas variables mantuvieron su significación estadística y se consideraron clínicamente importantes para el modelo, que se intentó que fuera lo más reducido posible y explicase los datos sin compromiso del rendimiento diagnóstico.

Los resultados finales del análisis de regresión logística se exponen en la tabla 45.

Variable	Coeficiente β	Error estándar (ET)	Valor p	Exp (B) OR	IC95%	
					Límite inferior	Límite superior
AST 2T	0,124	0,054	0,022	1,132	1,018	1,258
IMC	0,119	0,060	0,048	1,126	1,001	1,267
Constante	-6,946	2,394	0,004	0,001		

Tabla 46. Variables en la ecuación del modelo 2T

Con los coeficientes no estandarizados obtenidos en el modelo de regresión logística se llegó la siguiente ecuación:

$$\text{logit}(p) = -6,946 + 0,119\text{IMC} + 0,129\text{AST}$$

Los niveles de AST (OR 1,132 (IC95% 1,018-1,258); $p=0,022$) y los de IMC (OR 1,126 (IC95% 1,001-1,267); $p=0,048$) fueron las únicas variables que se asociaron de forma independiente con la preeclampsia. Las unidades de las variables incluidas en la fórmula son las siguientes: AST (UI/L) e IMC (kg/m^2).

El modelo de regresión logística fue estadísticamente significativo, $X^2 = 8,228$, $p = 0,016$.

Según el coeficiente de determinación obtenido, R^2 de Cox y Snell=0,144 y R^2 de Nagelkerke=0,225, este modelo explica entre un 14,4 y un 22,5 % de la variación de la variable

RESULTADOS

dependiente es explicada por las variables incluidas en el modelo. Por otro lado, el porcentaje de clasificación correcta de los pacientes usando este modelo fue del 84,9%.

Una vez elaborado el modelo, para evaluar su validez se estudió cómo se ajustaban a los datos. Para ello se evaluó el grado de calibración y de discriminación de cada uno de los modelos. Se realizó el test de bondad de ajuste, o test de Hosmer-Lemeshow. Según los resultados obtenidos nuestro modelo tenía una buena calibración (tabla 46).

También se evaluó la capacidad de discriminación de los modelos mediante el cálculo del área bajo la curva (AUC) obteniendo el estadístico c o AUC (tabla 46). Valores de p significativos ($p < 0,05$) indican un grado de discriminación adecuado. Según los resultados obtenidos, nuestro modelo tiene una capacidad de discriminación aceptable.

Modelo	H-L	ESTADÍSTICO C	
		Valor (IC95%)	p
Modelo 2T	0,708	0,757 (0,593-0,896)	0,048

Tabla 47. Test de Hosmer-Lemeshow (H-L) y estadístico c del modelo de regresión logística del segundo trimestre.

Así mismo se calculó el punto de corte óptimo del modelo para la detección del desarrollo de PE, así como su sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y TFP (tabla 47).

Cut off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
0,259	63,3	83,3	50	89,7	16,6

Tabla 48, Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del 2º trimestre.

Una vez comprobado que el modelo combinado aportaba los buenos resultados de AUC, sensibilidad y especificidad, se realizó una comparación del mismo con las variables cuya AUC había resultado significativa. Para ello se compararon los estadísticos c mediante la diferencia de áreas, según lo descrito por DeLong y cols (204). Pese a tener un AUC más elevado el modelo combinado 2T no se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en ningún caso, lo que refleja que el AUC aportada por el modelo combinado no es significativamente mejor que las variables individuales.

Variable	AUC	Error estándar	IC 95%
MODELO COMBINADO 2T	0,757	0,0965	0,593 - 0,896
VCM 2T	0,667	0,131	0,531 - 0,818
PCR 2T	0,718	0,103	0,559 - 0,877
ALT 2T	0,667	0,114	0,523 - 0,812

PLGF 2T	0,715	0,112	0,557 - 0,873
---------	-------	-------	---------------

Tabla 49. Comparación áreas bajo la curva (AUC) del modelo predictivo vs parámetros bioquímicos predictores de PE del segundo trimestre.

Variable	BM 2T	DIFERENCIA DE AUC	
		Valor (IC95%)	p
Modelo combinado 2T	VCM	0,0532(-0,267-0,374)	0,7447
	ALT	0,137(-0,192-0,465)	0,4156
	PCR	0,0810(-0,59-0,321)	0,5089
	PIGF	0,0833(-0,128-0,295)	0,4405

Tabla 50. Diferencia de áreas al comparar el modelo predictivo de regresión logística con los biomarcadores predictores de PE del segundo trimestre.

4.3.3. Modelo predictivo del tercer trimestre

Como en los anteriores trimestres, elaboramos un modelo predictor del riesgo de PE pero esta vez con marcadores del tercer trimestre. En este caso en el análisis de regresión logística binaria se incluyeron las variables clínicas maternas y biomarcadores en suero determinados en el tercer trimestre de gestación que tuvieron una $p < 0,15$ en el análisis univariado. Posteriormente se eliminaron del modelo los siguientes biomarcadores: glucosa, bilirrubina total, ALT, LDH, PIGF, sFlt-1, ratio Flt-1/PIGF, cistatina C, creatinina, colesterol total, triglicéridos y TAS y las variables clínicas PE previa, HTA crónica, diabetes, debido a que no cumplieron con los criterios que establecimos para la aceptación de las variables en los modelos predictivos. Las variables incluidas en el modelo final fueron AST del tercer trimestre como parámetro bioquímico, y como variable materna el IMC al inicio de la gestación ya que fueron las únicas variables mantuvieron su significación estadística y se consideraron clínicamente importantes para el modelo, que se intentó que fuera lo más reducido posible y explicase los datos sin compromiso del rendimiento diagnóstico.

Los resultados finales del análisis de regresión logística se muestran en la tabla 50.

Variable	Coeficiente β	Error estándar (ET)	Valor p	Exp (B) OR	IC95%	
					Límite inferior	Límite superior
IMC	,126	,071	,046	1,134	1,001	1,303
AST 3T	,263	,076	,001	1,301	1,121	1,509
Constante	-10,149	2,980	,001	,000		

Tabla 51, Variables en la ecuación del modelo 3T

La ecuación del modelo de regresión logística quedaría:

$$\text{logit}(p) = -13,523 + 0,203\text{IMC} + 0,299\text{AST}$$

Las unidades de las variables incluidas en la fórmula son las siguientes: AST (UI/L) e IMC (kg/m²).

El modelo de regresión logística fue estadísticamente significativo, $X^2 = 25,96$, $p < 0,0005$.

Según el coeficiente de determinación obtenido, R^2 de Cox y Snell=0,296 y R^2 de Nagelkerke=0,520, en este modelo entre un 29,6 y un 52,0% de la variación de la variable dependiente es explicada por las variables incluidas en el modelo. Por otro lado, el porcentaje de clasificación correcta de los pacientes usando este modelo fue del 87,8%.

Una vez elaborado el modelo, para evaluar su validez se estudió cómo se ajustaban a los datos. Para ello se evaluó el grado de calibración y de discriminación de cada uno de los modelos. Se realizó el test de bondad de ajuste, o test de Hosmer-Lemeshow que evalúa el grado en que la probabilidad predicha coincide con la probabilidad esperada. Según los resultados obtenidos nuestro modelo tenía una buena calibración (Tabla 51).

También se evaluó la capacidad de discriminación de los modelos mediante el cálculo del área bajo la curva (AUC) obteniendo el estadístico c o AUC (Tabla 51). Que evalúa el grado en el que el modelo distingue entre los individuos en los que ocurre el evento y los que no. Valores de p significativos ($p < 0,05$) indican un grado de discriminación adecuado. Según los resultados obtenidos, nuestro modelos tiene una buena capacidad de discriminación aceptable.

Modelo	H-L	ESTADÍSTICO C	
		Valor (IC95%)	p
Modelo 3T	0,972	0,937(0,853-0,981)	0,006

Tabla 52. Test de Hosmer-Lemeshow (H-L) y estadístico c del modelo de regresión logística del segundo trimestre.

Se calculó el punto de corte óptimo del modelo para la detección del desarrollo de PE, así como su sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y TFP (tabla 52).

Cut-off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	TFP (%)
0,0996	100	70	40	97,9	23,0

Tabla 53. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del 3º trimestre.

Una vez establecido el modelo predictor del tercer trimestre y que aportaba buenos resultados de AUC, sensibilidad y especificidad, se realizó una comparación del mismo con los

biomarcadores cuya AUC había resultado significativa e igual o mejor que otras AUC de otros biomarcadores. Para ello se compararon los estadísticos c mediante la diferencia de áreas, según lo descrito por DeLong y cols (204). No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en ningún caso, lo que refleja que el AUC aportada por el modelo combinado del tercer trimestre es igual de bueno que las variables individuales analizadas y no se puede decir que sea significativamente mejor.

Variable	AUC	Error estándar	IC 95%
Modelo combinado 3T	0,937	0,0323	0,853 - 0,981
AST 3T	0,929	0,0358	0,875 - 0,982
PIGF 3T	0,841	0,0812	0,684 - 0,999
sFlt-1 3T	0,791	0,0894	0,624 - 0,958
IMC	0,726	0,0910	0,607 - 0,825

Tabla 54. Comparación áreas bajo la curva (AUC) del modelo predictivo vs parámetros bioquímicos predictores de PE del primer trimestre.

Variable	BM 3T	DIFERENCIA DE AUC	
		Valor (IC95%)	p
Modelo combinado 3T	AST	0,0260(-0,0109-0,0629)	0,1677
	PIGF	0,0968(-0,0812-0,275)	0,2867
	sFlt-1	0,115(-0,0210-0,250)	0,077
	IMC	0,211(0,0245-0,398)	0,0266

Tabla 55. Diferencia de áreas al comparar el modelo predictivo de regresión logística con los biomarcadores predictores de PE del segundo trimestre.

4.4. OBJETIVO 4.

Estudiar la eficacia del tratamiento con AAS iniciado antes de la semana 16 de gestación para la prevención de la de PE en gestantes de alto riesgo y evaluar la expresión de los biomarcadores a estudio en ambos grupos

Como ya expusimos la incidencia de PE en la población global de estudio fue de 10%. Al analizar el efecto de la aspirina en la prevención de la preeclampsia se encontró que en el grupo de mujeres tratadas con aspirina la PE apareció con una frecuencia del 4,68% mientras que en las pacientes tratadas con placebo la incidencia fue mayor, del 16,3 % (OR 0,28; IC95%, 0,062-0,958, $p=0,032$).

Se analizó su efecto sobre la PE de inicio precoz y tardío hallando una frecuencia de aparición de PE precoz y tardía de 4,2% y 1,6% en las pacientes que tomaron placebo y de 3,3 y 0,84% en las pacientes que tomaron aspirina, datos que no mostraron diferencia significativa alguna.

Así mismo se analizó la incidencia de parto pretérmino que se dio con una frecuencia de un 6,8% en el grupo de aspirina, en comparación con 20% en el grupo placebo (OR en el grupo de aspirina, 0,291; IC 95%, 0,085-0,94; $p = 0,04$) en toda la población tratada.

4.4.1. Análisis de la expresión de biomarcadores en el grupo tratado con aspirina vs placebo

La aspirina ha sido objeto de muchos estudios y metanálisis que han demostrado una reducción significativa en el riesgo de preeclampsia con el uso de dosis bajas de aspirina que resulta coincidente con nuestros datos. Bajo la hipótesis de un posible efecto modulador de ésta sobre alguno de los biomarcadores analizados, estudiamos las posibles diferencias en su expresión en el grupo de pacientes tratados con aspirina y el grupo de pacientes tratado con placebo. En cuanto a los biomarcadores analizados en el segundo trimestre, momento en el que ya se había iniciado el tratamiento con aspirina o placebo, se encontró una diferencia significativa en los niveles de triglicéridos ($p=0,013$) y si bajáramos el nivel de significación al 90% también la glucosa y la IL-6 presentarían diferencias significativas ($p<0,1$) siendo los niveles más bajos en las gestantes que tomaron aspirina.

BIOMARCADORES EN EL 2ºTRIMESTRE EN EL GRUPO TRATADO CON ASPIRINA VS PLACEBO			
	PLACEBO	ASPIRINA	valor p
BIOQUÍMICA GENERAL			
Glucosa (mg/dL)	82,50[77,75-91,95]	79,0 [72,0-87,9]	0,085
Albúmina (g/dL)	4,44 ±0,75	4,46 ± 0,87	0,620
Proteínas totales (g/dL)	7,46±0,89	7,38±1,35	0,225
Hierro (mg/dL)	106,7 [85,7-131,5]	104,3[74,9-141,72]	0,150
Ferritina (mg/dL)	33,47±24,24	33,80±24,068	0,885
Transferrina (mg/dL)	386,83±65,96	357,06±90,02	0,601
PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA			
Bilirrubina total (mg/dL)	0,20[0,11-0,3]	0,18[0,13-0,25]	0,178
ALT (UI/L)	13,80 [10,10-18,75]	12[8,92-15]	0,142
AST (UI/L)	18,58±7,98	15,71±5,61	0,242
ALP (UI/L)	73,00±32,56	61,23±23,37	0,205
LDH (UI/L)	190,63±49,20	192,4±39,9	0,437
MARCADORES DE INFLAMACIÓN			
PCR (mg/dL)	0,89[0,40-1,40]	0,68[0,37-1,17]	0,438
IL-6 (pg/mL)	4,04[2,62-5,10]	3,15[2,30-4,11]	0,088
MARCADORES REGULADORES DE LA ANGIOGÉNESIS			
PIGF (pg/mL)	128,90±68,35	130,00±63,00	0,315
sFlt-1 (pg/ml)	1547[1257-1892]	1685-[1184-1882]	0,646
Ratio sflt-1:PIGF	13,77[8,50-21,49]	12,92[7,34-20,91]	0,557
MARCADORES PLACENTARIOS			
PAPP-A (mUI/mL)	13162[9364-16248]	13455[9472-21912]	0,937
β -hCG (µg/mL)	6,05[4,05-11,00]	6,40[4,50-13,4]	0,220
MARCADORES DE FUNCIÓN RENAL			
Urea (mg/dL)	21,10±5,83	20,92±5,54	0,626
Creatinina (mg/dL)	0,58±0,12	0,60±0,16	0,548
FG estimado creatinina (mL/min)	123,27[116,1-130,7]	120,01[111,0-127,3]	0,315
Cistatina C (mg/L)	0,72±0,191	0,68±0,13	0,272
FG estimado cistatina C (mL/min)	117,94[111,2-124,2]	118,08[112,3-122]	0,953
MARCADORES DE DISLIPEMIA			
Colesterol total (mg/dL)	265,31±41,74	259,81±53,90	0,139
Colesterol HDL (mg/dL)	84,40[70,20-99,90]	88,35[77,05-103,22]	0,454
Colesterol LDL (mg/dL)	136,76[119,2-155,3]	134,2[110,8-167,9]	0,352
Triglicéridos (mg/dL)	214,74±95,15	183,53±60,11	0,013
Lipoproteína (a) (mg/dL)	13,50[5,95-45,90]	16,35[7,32-35,05]	0,788
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO			
Capacidad antioxidante total del suero (mmol/L)	1,63[1,52-1,76]	1,62[1,46-1,74]	0,271
Ácido úrico (mg/dl)	3,3[2,80-4,025]	3,50[2,90-3,90]	0,420

RESULTADOS

MINERALES			
Calcio (mg/dL)	10,72[9,98-11,24]	10,50[9,73-11,62]	0,910
Magnesio (mg/dL)	2,07[1,94-2,25]	2,08[1,88-2,28]	0,324

Tabla 56. Comparación de los biomarcadores en el primer trimestre en la el grupo tratado con aspirina vs placebo. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ].

Así mismo se estudiaron estos biomarcadores en el tercer trimestre, entre la semana 32-34, para valorar las posibles diferencias en su expresión que podría derivarse del tratamiento con aspirina. En este caso se encontraron diferencias en los niveles de s-Flt-1 que fueron mayores en las gestantes que tomaban placebo en comparación con las gestantes que tomaron aspirina ($p < 0,05$) (Tabla 56)

BIOMARCADORES EN EL 3ºTRIMESTRE EN EL GRUPO TRATADO CON ASPIRINA VS PLACEBO			
	PLACEBO	ASPIRINA	valor p
BIOQUÍMICA GENERAL			
Glucosa (mg/dL)	81[71-102,6]	76,7[69,75-89,77]	0,364
Albúmina (g/dL)	3,93±0,62	4,03±0,44	0,66
Proteínas totales (g/dL)	6,93±0,69	7,02±0,8	0,477
Hierro (mg/dL)	106,88±56,41	100,0±48,03	0,698
Ferritina (mg/dL)	24,76±17,32	22,07±12,89	0,549
Transferrina (mg/dL)	412,33±87,88	421,6±72,6	0,833
PRUEBAS DE FUNCIÓN HEPÁTICA			
Bilirrubina total (mg/dL)	0,09[0,05-0,20]	0,07[0,04-0,11]	0,15
ALT (UI/L)	14,5[10,95-17]	14[9,45-16,47]	0,623
AST (UI/L)	15[10-24,35]	10[6,5-16,75]	0,1
ALP (UI/L)	130,6±34,2	118,9±30,65	0,192
LDH (UI/L)	200,5[167,2-237,5]	189,5[158,0-218,0]	0,367
MARCADORES DE INFLAMACIÓN			
PCR (mg/dL)	0,43[0,31-1,00]	0,53[0,39-0,96]	0,359
IL-6 (pg/mL)	4,84[3,76-6,36]	3,14[4,14-5,57]	0,1
MARCADORES REGULADORES DE LA ANGIOGÉNESIS			
PIGF (pg/mL)	139,3[60,7-361,55]	173,0[91,55-5289]	0,676
sFlt-1 (pg/ml)	2345[1713-3724]	2009[1571-2403]	0,046
Ratio sflt-1:PIGF	15,29[4,44-47,05]	10,46[6,30-25,58]	0,565
MARCADORES PLACENTARIOS			
PAPP-A (mUI/mL)	24170[18387-29010]	24360[19019-30185]	0,593
β -hCG (µg/mL)	7,65[4,95-16,92]	8,60[4,55-15,85]	0,955
MARCADORES DE FUNCIÓN RENAL			
Urea (mg/dL)	19,70±4,46	20,94±6,50	0,105
Creatinina (mg/dL)	0,57[0,5-0,63]	0,54[0,50-0,59]	0,642

FG estimado creatinina (mL/min)	124,03[115,3-130,35]	122,5[119,5-127,9]	0,895
Cistatina C (mg/L)	0,77±0,20	0,73±0,18	0,955
FG estimado cistatina C (mL/min)	113,17±15,02	116,18±16,25	0,411
MARCADORES DE DISLIPEMIA			
Colesterol total (mg/dL)	283,34±71,19	289,22±63,6	0,913
Colesterol HDL (mg/dL)	75,46±25,23	76,95±18,75	0,282
Colesterol LDL (mg/dL)	161,71[128,12-188,23]	155,02[121,98-181,60]	0,512
Triglicéridos (mg/dL)	280,71±93,35	275,5±81,4	0,282
Lipoproteína (a) (mg/dL)	19,40[6,71-39,8]	12,30[5,34-28,57]	0,202
MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO			
Capacidad antioxidante total del suero (mmol/L)	1,47[1,34-1,53]	1,46[1,39-1,53]	0,651
Ácido úrico (mg/dl)	4,51±1,20	4,29±0,93	0,258
Homocisteína (µmol/L)	5,37[4,42-6,09]	4,95[4,19-6,01]	0,413
MINERALES			
Calcio (mg/dL)	10,28[9,72-10,88]	10,38[9,78-11,02]	0,667
Magnesio (mg/dL),,	1,92±0,21	1,95±0,27	0,353

Tabla 57. Comparación de los biomarcadores en el primer trimestre en la el grupo tratado con aspirina vs placebo. Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ].

5. DISCUSIÓN

El presente estudio tiene como finalidad evaluar la utilidad de los biomarcadores seleccionados como posibles predictores de PE para establecer un modelo de predicción de preeclampsia de alta precisión sobre mujeres con riesgo a priori. Se han diseñado así mismo otros dos modelos de predicción para el segundo y tercer trimestre con el fin de reevaluar el riesgo en sendos trimestres. El objetivo principal del cribado de PE en el primer trimestre (a las 11-13 semanas) es identificar los casos de alto riesgo para iniciar acciones preventivas a tiempo que disminuyan ese riesgo de padecer preeclampsia. La reevaluación del riesgo de preeclampsia en los embarazos ya examinados en el primer trimestre podría en muchos casos proporcionar tranquilidad a la gestante ante una reducción de su riesgo y además permitiría una primera evaluación del riesgo para aquellos embarazos que no se presentaron en el primer trimestre..

Así uno de los objetivos pretende evaluar la utilidad de la aspirina en la prevención de la preeclampsia, así como valorar la evolución de los biomarcadores estudiados a lo largo del embarazo en función de la intervención con aspirina o placebo con los datos obtenidos en nuestro centro del estudio ASPRE, el cual ha sido hasta el momento el mayor estudio prospectivo, aleatorizado, controlado con placebo, sobre el uso profiláctico de aspirina en mujeres con mayor riesgo de preeclampsia.

5.1. Características de la población global de estudio

Debido a que los factores maternos juegan un papel importante en el desarrollo de la preeclampsia se han estudiado en nuestra población una serie de factores de los que algunos son modificables, como el IMC, y otros no lo son, como la edad materna o la genética, debido a que su presencia se relaciona en mayor o menor grado con el posterior desarrollo de preeclampsia y pueden ser importantes como predictores de la enfermedad. Por este motivo, en el presente estudio se han analizado factores como la edad materna, la paridad, la raza, antecedentes de preeclampsia previa, la historia familiar de preeclampsia, gestación múltiple, el IMC y la existencia de enfermedades previas como la diabetes, HTA crónica, enfermedad renal, enfermedad autoinmune y síndrome antifosfolípido.

La edad media de las participantes fue de $32,5 \pm 5,3$ años, dato que concuerda con la edad media gestacional registrada en España en la actualidad. Es un hecho que las mujeres españolas cada vez retrasan más su maternidad y de los 25,2 años de edad media para tener el primer hijo de 1975 (primer dato disponible en el INE) a los 32,5 de 2016 (fuente consultada: INE 2016), la evolución parece imparable. De las 119 mujeres estudiadas, 78 (66 %) fueron

menores de 35 años y 41 (34 %) fueron mayores de 35 años siendo este dato algo muy similar al encontrado en la literatura, ya que se estima que a día de hoy el 33% de los niños que nacen en España son hijos de mujeres de más de 35 años.

Referente a la etnia de las mujeres participantes, el 99,9% de nuestra población fue de raza blanca y tan sólo hubo una gestante asiática. Esto es debido probablemente a que en los criterios de selección de los participantes al estudio ASPRE debían hablar español o inglés para ser incluidas en el ensayo y muchas de las gestantes de otras etnias no hablaban estos idiomas de forma fluida y por ello no fueron incluidas en el estudio. Por este motivo no podemos valorar en nuestra muestra el vínculo entre la etnia y la preeclampsia, pero está documentado que la raza afroamericana tiene un mayor riesgo de sufrir preeclampsia que las mujeres blancas y asiáticas (205).

Al igual que el aumento de la obesidad en los países desarrollados ha seguido una importante progresión en los últimos años, también están aumentando las tasas de obesidad durante el embarazo.

Se obtuvo un Índice de Masa Corporal medio de $26,9 \pm 5,3$, con un valor mínimo de 18,6 y un máximo de 48 Kg/m^2 . En rango de sobrepeso u obesidad encontramos a 67 pacientes (56,28%) que se correspondieron con los siguientes niveles: 43 (36,1%) sobrepeso, 16 (13,5%) obesidad grado I, 6 (5%) obesidad grado II, 2 (1,68%) obesidad grado III. La última encuesta en salud del INE acerca el IMC en España se realizó en 2014. Los datos mostraron que en la región de Murcia había un 37,9% de sobrepeso y un 17,3% de obesidad, cifras tanto de obesidad como de sobrepeso bastante similares a las halladas en nuestro estudio (206). Además en el análisis univariado de la preeclampsia se observó una significación estadística del IMC con el riesgo de preeclampsia (OR=1,107, IC 95%= 1,005-1,220; $p=0,040$).

En cuanto a su relación con la preeclampsia, el sobrepeso y la obesidad aumentan el riesgo general de preeclampsia en aproximadamente 2 a 3 veces y el riesgo aumenta a medida que aumenta el IMC (24), lo cual concuerda con nuestros resultados ya que aquellas mujeres que desarrollaron preeclampsia tenían de media un IMC de $30,5 \text{ kg/m}^2$, en rango de obesidad, en contraposición con el IMC de $26,2 \text{ kg/m}^2$ que tuvieron al inicio de la gestación las mujeres que no desarrollaron esta enfermedad ($p=0,045$). Visto de otro modo, el tener un IMC superior a 35 kg/m^2 constituyó un factor de riesgo significativo para PE en nuestra población (OR= 6,97; IC-95%= 1,4-34,6; $p= 0,018$), lo cual quiere decir que la razón entre ocurrencia versus la no ocurrencia de preeclampsia es casi 7 veces mayor en embarazadas con IMC $>35 \text{ Kg/m}^2$ en comparación a embarazadas con un IMC $<35 \text{ Kg/m}^2$, siendo esta asociación

estadísticamente significativa. Por ello, a toda mujer con sobrepeso u obesidad con deseos gestacionales se le recomienda perder peso, ya que un exceso de peso se relaciona con el desarrollo de múltiples complicaciones durante el embarazo, como es el desarrollo de preeclampsia.

En cuanto a las técnicas de concepción hubo 10 casos (8,4%) que fueron por FIV y 1 (0,8%) mediante IA, mientras que el resto quedaron embarazadas de forma espontánea. En el último Informe estadístico de Técnicas de Reproducción Asistida 2014 de la SEF (207), informó de 33934 partos de embarazos conseguidos por técnicas de reproducción asistida y para los 426303 nacimientos que hubo en España en ese año (INE 2014) se obtiene que en 2014 el 7,96% de los nacimientos fueron concebidos por TRA, cifra similar a la encontrada en nuestro estudio. Está documentado que las mujeres que conciben a través de técnicas reproductivas artificiales tienen más riesgo de desarrollar preeclampsia pero en nuestro estudio este dato no alcanzó significancia estadística, quizás por el bajo número de población estudiada.

Si nos referimos a los hábitos maternos, el 91,8% eran no fumadoras, lo cual tampoco se asoció a un mayor o menor riesgo de PE. Algunos autores, señalan que el hábito de fumar es un factor de protección. Sin embargo otros, en estudios multivariados de regresión logística, le asignan al tabaquismo una asociación estadística muy importante con la Enfermedad Hipertensiva del embarazo (208).

Al analizar los antecedentes obstétricos de las 119 pacientes, 12 de ellas (10,1%) habían presentado previamente PE, hecho que fue un FR significativo de PE en nuestra población. En relación a sus antecedentes familiares, un 9,2% tenían familiares que habían tenido PE, pero no hubo diferencias significativas entre el grupo que desarrolló PE y el que no en cuanto a este dato, a pesar de que en numerosos estudios se ha observado un aumento del riesgo de desarrollar preeclampsia en hijas y hermanas de mujeres que presentaron esta patología en su embarazo (209).

Así mismo se estudió si padecían alguna enfermedad y se encontró que un 28,4% de gestantes estaban diagnosticadas de hipotiroidismo mientras que no se registró ningún caso con lupus ni con síndrome antifosfolípido observándose una mayor prevalencia de PE en embarazadas con diabetes, HTA crónica y artritis reumatoide. El tener una tensión arterial diastólica >80mmHg en el primer trimestre de gestación, se consideró un factor de riesgo significativo de preeclampsia que implicaba tener tres veces más riesgo de padecer preeclampsia en nuestra población (OR= 2,9; IC-95 %= 1,03-8,2; p= 0,043).

- **Análisis de los resultados perinatales.**

En cuanto al tipo de parto desencadenado, en nuestra muestra se obtuvieron los siguientes resultados: el 45,4% de las gestaciones transcurrieron de modo natural, es decir, tuvieron un parto vaginal eutócico. En contraposición el 21% acabaron en parto instrumental y el 33,6 % en cesárea. En las mujeres que sufrieron PE se encontró una mayor frecuencia de partos inducidos y el padecer esta enfermedad implicaba tener 7 veces más probabilidad de necesitar inducción del parto (OR= 7,28; IC-95 %= 1,54-34; p=0,03) . Así mismo, el hecho de desarrollar preeclampsia durante el embarazo incrementó el riesgo de parto por cesárea (OR= 4,95; IC-95 %= 1,78-13,7; p=0,002). A día de hoy se sugiere para las gestantes con preeclampsia que el modo de parto no tiene por qué ser por cesárea y debe estar determinado por la edad gestacional fetal, la presentación fetal, el estado cervical y la condición materna y fetal. Efectivamente, nuestros datos observamos que las pacientes con PE presentaron una menor edad gestacional al parto, con una diferencia entorno a dos semanas, lo cual lo cual concuerda con la literatura, puesto que el único tratamiento actual para la PE es el parto, bien parto vaginal o cesárea (20).

Como bien se ha comentado la evidencia abala que la preeclampsia tiene un gran impacto en el desarrollo de resultados neonatales adversos como es la obtención de Apgar más bajos, bajo peso al nacer, restricción del crecimiento intrauterino y mayores tasas de ingresos en Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (210). Todos estos datos fueron encontrados en nuestro estudio lo que demostró una vez más la relación de la PE con la morbilidad y mortalidad perinatal.

En cuanto al test Apgar, se encontraron menores niveles medios de Apgar 1 min en los neonatos nacidos de madres con PE, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. De hecho se registraron 5 (25%) casos de neonatos de madres con preeclampsia con Apgar 1 min al nacer con una puntuación menor de 8, indicativa de la posible necesidad de utilizar algunas maniobras para ayudar a respirar al neonato mientras que sólo de las madres que no desarrollaron preeclampsia durante la gestación, 1 neonato (1%) presentó este valor crítico. La evolución de todos los neonatos fue buena ya que a los 5 -10 min todos los casos presentaron Apgar con puntuaciones mayores de 8, mostrando un estado neonatal óptimo.

Para estudiar el efecto de la preeclampsia en el crecimiento fetal, es importante comparar el crecimiento fetal de bebés nacidos de madres con preeclampsia con la de bebés nacidos de madres sin esta afección en la misma edad gestacional. En nuestra población un 35% de los

neonatos nacidos de madres con PE presentaron bajo peso al nacer (<2500g) mientras que tan sólo un 3% de las gestaciones que no desarrollaron PE presentaron bajo peso habiendo una diferencia estadísticamente significativa de 645,4g en sus medias . Los datos anteriormente expuestos en cuanto al Apgar, y el bajo peso al nacer se corresponde como indicábamos con el desarrollo normal de complicaciones perinatales de la preeclampsia (211).

Además el antecedente de preeclampsia se asoció un mayor porcentaje de ingresos en UCIN y a estancias más largas, lo cual se debe probablemente a la prematuridad y al bajo peso al nacer asociadas a la preeclampsia.

- **Análisis de las características de la PE en función de su momento de aparición**

En cuanto a las posible disparidad en los resultados detectados en función del tipo de PE, precoz versus tardía, no se encontraron diferencias significativas a nivel de la expresión de hemoglobina, plaquetas, ácido úrico, urea, creatinina, AST, ALT, INR y proteinuria ni tampoco en la severidad del cuadro .

Sí que se hallaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los días transcurridos desde el debut de la PE hasta el parto, que fue de 19 días en la PE de inicio temprano y de 2 días en la de inicio tardío ($p < 0,001$) lo cual se corresponde con las recomendaciones de las principales Sociedades de Ginecología (71), que indican que en toda mujer con preeclampsia de más de 37 semanas se ha de finalizar la gestación e inducir el parto inminente, no siendo así para las gestantes de menos de 37 semanas de gestación en las que se deben valorar el bienestar feto materno y en función de éste tomar decisiones adecuadas a cada caso. De los 7 casos de PE tardía (>34 semanas) 5 de ellos debutaron con más de 37 semanas, por lo que el parto se indicó el parto inmediato mientras que en los 5 casos de PE temprana se decidió iniciar el parto o una vez cumplieron las 37 semanas (2 casos) o de forma más precoz tras una adecuada valoración del bienestar fetomaterno minuciosa.

El inicio del parto y la vía de parto también presentaron diferencias entre los grupos, encontrando, con una diferencia estadísticamente significativa, mayor número de cesáreas en la PE de inicio temprano (88,9%) que en la de inicio tardío (45,5%). Cuando se indica el parto, el parto vaginal se puede lograr a menudo, pero es menos probable cuanto menor edad gestacional tiene la gestante ya que la probabilidad de cesárea aumenta a medida que disminuye de la edad gestacional (93-97% en gestantes con menos de 28 semanas de

gestación, 53-65% en aquellas con 28-32 semanas de gestación y 31-38% en las que llegan a 32-34 semanas de gestación) (212).

De igual modo se registraron diferentes resultados neonatales en la PE de inicio precoz, como el caso del peso al nacer que fue menor que en la PE de aparición tardía, con una diferencia de 372g. Los resultados en relación con el tipo de preeclampsia y su asociación con un neonato bajo peso se corresponden con lo reportado por otros autores (211) y que relacionamos con que el peso al nacer está determinado por la duración de la gestación y la tasa de crecimiento fetal. Si comparamos el peso al nacer con respecto al tipo de preeclampsia en función del momento del parto (PE a pretérmino vs PE término) los pesos fueron estadísticamente más bajos entre las madres con preeclampsia pretérmino, con una diferencia de medias de 674,4g. También hubo una pequeña diferencia, pero significativa, en el peso al nacer entre las madres con preeclampsia a término, que dieron a luz después de semana 37, y las que no tuvieron preeclampsia (diferencia media de 297,8 g, $p=0,039$) datos que concuerdan con la bibliografía en la que se encuentra que incluso los bebés nacidos de madres con preeclampsia a término tienen un crecimiento fetal más restringido que los bebés nacidos de madres normotensas, probablemente debido a la reducción de la perfusión uteroplacentaria (212).

5.2. Biomarcadores en el primer trimestre de gestación

- **hCG y PAPP-A**

Por las diferencias encontradas entre los resultados de hCG y la PAPP-A obtenidos de la primera analítica de rutina y los medidos por este estudio de investigación en la plataforma Delfia Express, se decidió analizar únicamente los que fueron obtenidos bajo condiciones de medida controladas directamente por los investigadores, por lo tanto resultantes de la plataforma Delfia Xpress. De ellos sólo se encontraron diferencias significativas en los niveles en MoM de PAPP-A ($p=0,037$) entre el grupo que desarrolló PE y el que no.

La proteína A placentaria asociada al embarazo (PAPP-A) está consolidada desde hace tiempo en la rutina del control gestacional precoz como marcador de aneuploidías. Mucho se ha escrito en la literatura científica, en embarazos con un cariotipo normal, sobre el mayor riesgo que suponen valores bajos de PAPP-A para el desarrollo de preeclampsia en el primer trimestre de gestación. Si el nivel de PAPP-A es insuficiente, la IGF permanece en su forma inactiva, llevando a un crecimiento fetal y placentario disminuido.

El trabajo de Dugoff y *cols.* en 2004, usando más de 30.000 pacientes del estudio FASTER (213), fue de los primeros en demostrar asociación de valores de PAPP-A bajos con la preeclampsia y desde entonces se han publicado más de 100 trabajos sobre este tema, la gran mayoría en la última década. La mayoría de los estudios publicados han demostrado que las bajas concentraciones de PAPP-A usada como único marcador se asocian significativamente con PE con unas tasas de detección bastante bajas que oscilan entre 22% y 43% (196) y valores predictivos bastante pobres, mostrando un VPP máximo del 20%(214). En nuestro estudio los niveles de PAPP-A en MoM fueron más bajos en los pacientes que desarrollaron PE ($0,66\pm 0,24$) que en los que no ($1,47\pm 0,88$), $p=0,037$ y el valor predictivo positivo que mostró esta prueba fue del 13%.

Akolekar R y *cols.*(215). consideraron que el MoM de PAPP-A es buen marcador para su inclusión en un test de cribado de PE en el primer trimestre de gestación, junto a otros marcadores bioquímicos y biofísicos y las características maternas. Por ello este parámetro fue uno de los marcadores bioquímicos con los que se seleccionó a las pacientes de riesgo de este estudio, y aún en la población de mujeres en riesgo se mantuvieron diferencias importantes entre el grupo que desarrolló PE y el que no. Los valores de MoM de PAPP-A fueron capaces de discriminar la población que más tarde desarrollaría PE de la que no, y mujeres con niveles por debajo de 0,87 (cut off óptimo según el índice de youden), tendrían un riesgo 4 veces mayor (OR=4,03 IC95%: 0,798-20,38). Como ventajas, la incorporación de la determinación de PAPP-A en la analítica del primer trimestre no acarrearía en la actualidad ningún coste adicional debido a que de rutina se está empleando ya para el cribado de cromosopatías. En cambio, la PAPP-A cuando se introdujo en el modelo de regresión con otros marcadores no resulta tan importante y fue eliminada del modelo de predicción de riesgo final.

En relación al resto de marcadores propuestos como posibles predictores de PE y medidos ex profeso para esta tesis doctoral, se encontraron diferencias en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no lo hizo (grupo 2) en los siguientes biomarcadores: AST, LDH, PCR, IL-6, Lipoproteína (a), Ácido úrico y Leptina.

- **Pruebas de función hepática**

Las únicas transaminasas con valor clínico son dos: aspartato-aminotransferasa (AST o GOT) y la alaninoaminotransferasa (ALT o GPT). La ALT es más específica de daño hepático que la AST ya que la primera se localiza casi exclusivamente en el citosol del hepatocito. Por ello, la

medición de los niveles séricos de ALT sigue siendo así la prueba más útil para el diagnóstico rutinario de enfermedades hepáticas durante el embarazo. Al analizar nuestros datos, se observó que existía una diferencias de medias significativa entre los valores de AST en el grupo 1 y 2 siendo más altos los valores en las mujeres que desarrollaron PE. Se realizó una análisis de la curva ROC para describir la relación entre los diferentes valores de AST a las 11-13 semanas de gestación en la predicción de la preeclampsia y se obtuvo un buen área bajo la curva tras el análisis de su curva ROC (AUC=0,81, IC95%=0,715-0,896). Los niveles elevados de AST se asociaron significativamente con preeclampsia pero sin embargo, un nivel por encima de 50 UI / L tuvo una escasa sensibilidad, de sólo el 5% pero con una especificidad de 98,8%. El mecanismo por el que las enzimas hepáticas se elevan en la preeclampsia tiene su origen en una hipervascularización y vasoconstricción del hígado que resulta en daño celular y alteración de la permeabilidad de la membrana de los Hepatocitos (73). En nuestro estudio los niveles de AST son significativamente mayores en las gestantes que desarrollan PE en comparación con los de la embarazada normal pero sin embargo, no existe un valor de corte clínico que pueda utilizarse para la predicción de la preeclampsia pero pudiera ser que de forma combinada con otros biomarcadores sea útil aplicable a la práctica clínica.

Lo mismo ocurrió con la LDH, enzima de la que se encontraron niveles ligeramente más elevados en los casos que desarrollan preeclampsia frente a los que no, con una diferencia de medias de 20 UI/L ($p=0,038$). La LDH es una enzima intracelular que convierte el ácido láctico en ácido pirúvico y los niveles indican muerte celular y fuga de la enzima desde la célula. La LDH está omnipresente en todos los órganos y células por lo que sirve como indicador sugestivo de alteración de la integridad celular inducida por condiciones patológicas y se utiliza para detectar el daño celular o la muerte celular. En los casos de PE ya diagnosticada se le considera un marcador bioquímico útil ya que puede ser reflejo de la gravedad de esta enfermedad. Una de las alteraciones y signo de severidad típico de la preeclampsia es la existencia de anemia hemolítica, que se va a diagnosticar mediante el examen de un frotis sanguíneo que ponga en evidencia la presencia de esquistocitos o mediante la determinación de LDH que evidencie esta hemólisis. En nuestro caso hemos evaluado sus niveles en la semana 11-13 e incluso de una forma tan temprana se observan niveles más elevados en las mujeres que posteriormente desarrollarán la enfermedad lo cual probablemente será debido a la temprana hipoxia celular que tiene lugar desde la primera fase de la preeclampsia, consecuencia de una deficiente circulación placentaria que se asocia con aumento de la apoptosis a nivel del trofoblasto vellositario. Este dato coincide con el hallazgo de que en pacientes con preeclampsia se ha documentado una mayor concentración plasmática de LDH

en comparación a gestantes con embarazo normal ya que la apoptosis, proceso normal por la renovación tisular, constituye una parte importante del desarrollo embriológico de todos los órganos, incluida la placenta, pero que se encuentra incrementado desde bien temprano en los casos de preeclampsia (216).

- **Marcadores de inflamación**

En cuanto a los marcadores de inflamación, el objetivo de nuestro estudio fue determinar los valores séricos IL-6 y PCR en el primer trimestre en mujeres embarazadas con riesgo para el desarrollo de PE, y evaluar su relevancia para la predicción de este trastorno en base a que existe una teoría inmunológica que apoya que la remodelación por parte del trofoblasto de las arterias espirales puede verse alterada por las células inmunes y por el desequilibrio entre los factores pro y antiinflamatorios (217)(119). Nuestros datos reflejaron que tanto la PCR como la IL-6 presentaron niveles más altos en las mujeres que desarrollarían preeclampsia frente a los que no, lo cual parece corroborar que el sistema inmunológico y la inflamación juegan un papel en esta entidad. Se sabe que la PE se caracteriza por un estado proinflamatorio en la interfase fetomaterna, que determina una orientación hacia la respuesta inmune Th 1, en comparación con la respuesta antiinflamatoria en el embarazo normal.

La PCR es un marcador sensible que se expresa ante una reacción inflamatoria y el daño tisular que durante el embarazo normal aumenta considerablemente. Se han documentado estudios en los que desde el primer trimestre los niveles de PCR son significativamente mayores en mujeres con PE que en embarazos normotensos cuya concentración aumenta según avanza el embarazo, lo que muestra un incremento de la respuesta inflamatoria en la preeclampsia en comparación con el embarazo normal desde etapas precoces del embarazo. Nuestros datos concuerdan con los obtenidos por Wolf y cols(115), Tjoa y cols (218), así como con los de Oancea y cols(219). que encontraron un aumento de los niveles de PCR desde el primer trimestre en embarazos que posteriormente desarrollaron PE (118)(219). En nuestro estudio el cut off con el que se obtuvo el mejor índice de youden fue de 6.4 mg/L pero sólo el 52% de las mujeres con una PCR por encima de este punto desarrollaron preeclampsia en esta cohorte. Por lo tanto, la capacidad predictiva de la PCR es bastante limitada para ser clínicamente útil de forma aislada y de usarse tendría que ser combinado con marcadores adicionales. En un estudio de Adali y cols. (118) sobre mujeres con preeclampsia, concluyeron que el nivel de PCR en suero materno tiene una correlación con la gravedad de la preeclampsia, es signo de la disfunción endotelial y puede considerarse como un probable marcador de perfusión uteroplacentaria patológica. En cuanto al valor diagnóstico de la PCR para la predicción de la

preeclampsia otros estudios como el de Ertas *y cols*(172) . marcaron un punto de corte óptimo algo más elevado, en 9,66 mg / L como predictor de la preeclampsia grave y el estudio de Cebesoy *y cols*.(220) establecieron el cut off en 5 mg / L, muy similar al nuestro. Qiu *y cols*. (221) mostraron que niveles superiores de 4,9 mg / L aumentan el riesgo de preeclampsia en mujeres delgadas hasta 2,5 veces mientras que en nuestro estudio niveles superiores de 6,4mg/L son indicativos de 5 veces más riesgo de sufrir preeclampsia (OR= 5,12; IC-95 %= 1,37-19,11; $p < 0,001$) en nuestra cohorte.

Por su parte, la IL-6 es una citoquina multifuncional principalmente proinflamatoria, producida por las células endoteliales, la placenta y los leucocitos y tiene un papel decisivo en la respuesta inflamatoria y el control de la diferenciación de células T en inmunidad adaptativa. IL-6 también está involucrada en la proliferación e invasión de trofoblasto y el estrés oxidativo, siendo un marcador clave de disfunción endotelial. El aumento significativo en los niveles de IL-6 en nuestro estudio es consistente con el de Greer *y cols.*, Munno *y cols.* y Teran *y cols.* (219) que mostraron niveles más elevados de IL-6 en pacientes con preeclampsia. En nuestro estudio, niveles superiores a 4,7 pg/mL en la semana 11-13 conllevaban 15 veces más riesgo de padecer preeclampsia (OR=15,8, IC 95%:14,56-54,84). Como marcador aislado tuvo una escasa sensibilidad, del 66%, por lo que valoramos su inclusión en el modelo predictivo que construimos a posteriori.

- **Marcadores de dislipemia**

Los informes publicados que examinan los niveles de lípidos durante el embarazo y la preeclampsia generalmente han sido inconsistentes. Pero recientemente, un metanálisis (145)concluyó que los niveles de colesterol total, triglicéridos, colesterol no HDL y colesterol HDL medidos durante el embarazo están significativamente relacionados con el riesgo de preeclampsia. Por este motivo nos dispusimos a evaluar estos parámetros ya que de ser útiles en la práctica clínica serían pruebas fácilmente medibles en todos los laboratorios clínicos y de bajo coste por lo que podría servir como un método rentable para la identificación de las mujeres embarazadas con riesgo de desarrollar preeclampsia. Al contrario de lo esperado, nuestro estudio no encontró diferencia significativa alguna que reflejara un que un patrón dislipidémico de aumento del colesterol total, triglicéridos y colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C), junto con una disminución de las concentraciones de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) pueda estar asociado con un mayor riesgo de preeclampsia y se obtienen una vez más resultados inconsistentes.

La disfunción endotelial materna es un sello clásico de la preeclampsia (6). Muchos marcadores de la disfunción endotelial han sido reportados en mujeres preeclámpticas, incluyendo el aumento de los niveles de lípidos circulantes. Su acumulación en las células endoteliales disminuye la liberación de prostaciclina, resultando en estrés oxidativo a través de la disfunción endotelial (8), un mecanismo clave en la fisiopatología propuesta de la preeclampsia (9).

En cuanto a la Lipoproteína (a), se ha demostrado en algunos estudios que hay, en el segundo y en el tercer trimestre, niveles más altos de Lp(a) en mujeres que desarrollan PE en comparación con los gestantes sanas, pero no hemos encontrado ninguna publicación que analice su capacidad predictiva en el primer trimestre y, por lo tanto, este podría ser el primer estudio que analiza el rendimiento de esta prueba cuando se determina de forma temprana entre las semanas 11-13 de gestación. La Lp (a) es una lipoproteína plasmática compuesta por una partícula de LDL rica en colesterol, con una molécula de apolipoproteína B100 y una proteína adicional, la apolipoproteína (a), unida a través de un puente disulfuro. Los niveles elevados de Lp (a) potencialmente pueden aumentar el riesgo de enfermedad cerebrovascular a través de sus efectos protrombótico/antifibrinolítico, ya que la apolipoproteína (a) posee una homología estructural con el plasminógeno y la plasmina, pero no tiene actividad fibrinolítica y, a través de la aterogénesis acelerada como consecuencia de la deposición de la Lp (a)-colesterol en la íntima, o ambos.

La Lp (a) es un importante biomarcador en los pacientes con aterosclerosis, enfermedad coronaria y la insuficiencia cardíaca ya que los niveles elevados de Lp (a) han sido implicados en el desarrollo de la aterosclerosis, trombosis arterial, y la oclusión venosa en las que la lesión de las células endoteliales juega un papel clave al igual que ocurre en la preeclampsia (222). Los niveles elevados de Lp (a) pueden promover la aterosclerosis a través del atrapamiento en la íntima del colesterol derivado de la Lp (a), vía reclutamiento de células inflamatorias y/o vía la unión de los fosfolípidos oxidados proinflamatorios (223). Las acciones trombótica y antifibrinolítica de la apolipoproteína (a) están expresadas por un lado como inhibición de la fibrinólisis, estabilizando el coágulo y, por otro lado, como favorecedora de la coagulación, inhibiendo el factor tisular vía inhibidor. En resumen, la Lp(a) tiene un efecto protrombótico directo que junto con la acumulación de ésta en las lesiones ateroscleróticas, predispone a aquellos con altos niveles de Lp(a) a sufrir enfermedad cardiovascular. La similitud entre la preeclampsia y el proceso de aterosclerosis a nivel endotelial ha llevado a los investigadores a considerar el papel de Lp (a) en la preeclampsia. No sólo se la ha relacionado a esta lipoproteína con la preeclampsia sino que el estado protrombótico inducido por estos

niveles de Lp(a) se considera importante en la patogénesis de otras enfermedades del embarazo como la restricción del crecimiento intrauterino que a menudo surge como consecuencia de la preeclampsia (152). Se cree que la Lp (a) en la preeclampsia produce daño extendido a las células endoteliales, actuando a niveles altos como proteína de fase aguda y como vehículo para depositar el colesterol en el sitio de la disfunción endotelial.

Nuestros datos muestran una diferencia de medias entre el grupo que desarrolló PE y el que no de 1,85 ng/mL ($p=0,034$) encontrándose niveles más elevados en el grupo que desarrolló posteriormente preeclampsia. Se analizó su capacidad predictiva como marcador único y aplicando un cut off de 11,95 ng/mL, se obtuvo una Sensibilidad del 100%, especificidad del 71% y una tasa de detección del 76% para una tasa de falsos positivos del 29%. Niveles superiores de 11,95 implicaron el doble de riesgo de padecer preeclampsia en nuestra población (OR:1,95 (1,314-2,332) mientras que si subíamos el cut off a 20ng/mL las mujeres tenían 10 veces más riesgo de padecer preeclampsia. El rendimiento como prueba única en nuestra población ha mostrado una capacidad predictiva bastante buena, con un área bajo la curva de 0,92, el mejor valor de todos los biomarcadores predictores de preeclampsia en el primer trimestre.

Ante los resultados expuestos nos preguntamos si la Lp (a) es una causa de preeclampsia, una consecuencia, o un simple espectador. Su relación con la preeclampsia ha sido estudiada pero los resultados no son uniformes ya que se ha encontrado un aumento, disminución o nivel equivalente de Lp (a) en los pacientes que desarrollan PE en comparación con embarazadas sanas. En una reciente revisión encontraron nueve estudios que evaluaron la Lp (a) en la preeclampsia, de los que tres mostraron un aumento del nivel de Lp (a) en los sujetos con preeclampsia en comparación con controles sanos, uno de los estudios mostró una disminución nivel de Lp (a) en los sujetos con preeclampsia grave, que se postuló se debía a un daño endotelial más extenso en la preeclampsia severa en comparación con la leve y el resto de los nueve estudios demostró que no hubo diferencias en los niveles de Lp (a) en sujetos con preeclampsia en comparación con los controles sanos(150). Sin embargo muy pocos artículos han intentado evaluar un mecanismo que explique el motivo de esa elevación de la Lp (a) en la preeclampsia pero lo que parece claro es que los niveles altos de Lp(a) pueden causar daño endotelial que podría contribuir a la preeclampsia. Los buenos resultados obtenidos con este marcador de sencilla obtención ha permitido su inclusión en el modelo predictivo combinado.

- **Marcadores de estrés oxidativo**

La placenta es un órgano rico en purinas por lo que su producción de ácido úrico es importante, motivo por el cual se ha investigado ampliamente su papel en la PE. Casi todos los estudios han encontrado una asociación fuerte con la preeclampsia cuando se emplea incluso como marcador único en etapas precoces del embarazo. En relación a nuestro grupo de gestantes, aplicando un punto de corte de en el ácido úrico de 4,15mg/dL se obtuvo un 55% de sensibilidad y un 93,1% de especificidad. Nuestro estudio está en la línea de las revisiones que se han realizado hasta el momento, que han demostrado que una determinación de ácido úrico antes de la 25 semana de gestación puede ser más útil para predecir el desarrollo de PE que descartarlo, ya que este marcador es bastante más sensible que específico. En algunos estudios que establecieron valores de corte para la positividad entre 3,5-4mg/dL con una precisión en la predicción de PE bastante variable que oscilaba entre 0,0% y 55,6% con especificidades de entre el 76,9% y el 94,9% (178), datos concordantes con los resultados obtenidos. Sobre la base de estos hallazgos, se podría considerar la detección de PE utilizando el ácido úrico como prueba predictiva pero sin embargo, estos hallazgos no se encontraron en otros estudios (178). Lo que sí resulta claro a la vista de nuestros y los de la bibliografía es que niveles elevados de ácido úrico incrementan el riesgo de PE tanto que para niveles superiores a 4,15mg/dL en la semana 11-13 de gestación las gestantes tendrían 16 veces más riesgo de desarrollarla enfermedad (OR=16,7; IC95%= 4,98-55,99). En consecuencia, el aumento de ácido úrico observado en mujeres con PE podría ser considerado uno de los eventos más tempranos en el desarrollo de este síndrome, y por lo tanto, los cambios en sus concentraciones, incluso cuando su valor se encuentre dentro los rangos normales, podría ser útil para definir una población que presente mayor riesgo de desarrollar PE antes de la aparición de la enfermedad. Corominas *et cols.* (224) sugieren que un aumento en los niveles de ácido úrico, documentado por dos mediciones una antes y otra después de la semana 20 de gestación, podría ser útil para identificar a las gestantes con factores de riesgo de desarrollar PE, quienes requerirán un abordaje clínico diferencial. Sólo un análisis exhaustivo que tenga en cuenta los pros y contras de la rentabilidad predictiva de la prueba, puede arrojar luz sobre si el cribado con ácido úrico es una estrategia que vale la pena.

- **Marcadores de función endocrina**

La principal fuente de leptina es el tejido adiposo, pero durante el embarazo esta hormona también es producida por la placenta. En el embarazo normal, la expresión de la leptina placentaria aumenta en comparación con las mujeres no embarazadas y participa en procesos importantes del embarazo, como en el control de la implantación, la producción de β -hCG, el crecimiento placentario, la absorción de aminoácidos y la mitogénesis. Pero la expresión de la leptina placentaria y los niveles circulantes de leptina se han encontrado en ciertos estudios exageradamente incrementados en la preeclampsia con respecto a los embarazos sanos desde la semana 11-13 de gestación, por lo que la leptina podría ser un biomarcador potencial para la preeclampsia (153). Hemos encontrado algunos estudios (154)(225)(226) que examinaron el valor de la leptina en la predicción de la preeclampsia pero por lo general muestran resultados inconsistentes posiblemente debido al pequeño tamaño de las muestras y a la variabilidad en la toma de muestras. Los estudios (156) que reflejan una elevación de la expresión de la leptina placentaria en la preeclampsia es consistente con el modelo aceptado de que la disfunción placentaria conduce a un aumento de los factores asociados a la placenta, entre los que se encuentra la leptina, que resulta en la enfermedad sistémica materna. Una hipótesis se basa en que la leptina se incrementaría como resultado del estrés placentario y cuya finalidad es aumentar el aporte de nutrientes al feto (227). Alternativamente, la inflamación materna excesiva que tiene lugar en la PE junto con otros factores placentarios median la excesiva expresión de leptina en las mujeres que desarrollan PE. En ambos escenarios, el aumento de la leptina placentaria podría ser un valioso indicador de la enfermedad ya que además, existen pruebas de que la leptina puede desempeñar un papel directo en la patogénesis de la preeclampsia. El aumento de la leptina conduce a la hipertensión en modelos de ratón y se ha demostrado que aumenta la presión sanguínea a través de la activación simpática y la síntesis de óxido nítrico. Así mismo, la leptina parece tener propiedades proinflamatorias y la inflamación, como ya hemos visto, está asociada fuertemente con la preeclampsia (154).

Nuestros resultados demuestran que las concentraciones séricas de leptina medidas en el inicio del embarazo son significativamente más altas en las mujeres con preeclampsia en comparación con los controles normotensos y que niveles altos aumentan el riesgo de PE según aumentan los niveles de leptina, tanto como que para las mujeres con concentraciones por encima de 6,2 ng/mL su riesgo llegaba a ser ocho veces mayor que el de mujeres con niveles por debajo de éste punto (OR:8,12 IC95% 1,69-38,9). En la bibliografía encontramos algunos estudios que avalan nuestros resultados, como uno que examinó los niveles de leptina de 126 mujeres preeclámpicas en el primer trimestre y encontró que el índice de leptina libre

estaba significativamente elevado en comparación con 289 controles sanos (225). Así mismo Tayloe y cols. (154) y por otro lado Nanda y cols. (153) ,examinaron los niveles de leptina de mujeres con una edad gestacional entre la 15-18 semanas de gestación y a las 11-13 semanas y se obtuvieron, igual que en nuestro estudio, niveles más altos de leptina en mujeres que desarrollaron más tarde PE. Pero el estudio más grande hasta la fecha que ha examinado la leptina como biomarcador se realizó dentro de complejo estudio de resultados del embarazo que incluyó 12804 nacimientos en Noruega y que incluyó 256 casos de preeclampsia y 607 controles. En éste se observó que los niveles de leptina en cordón umbilical eran significativamente más altos en mujeres con preeclampsia en comparación con los controles al final del embarazo (228). Por el contrario, otros dos estudios no informaron diferencias significativas en los niveles de leptina a las 7-13 y 18 semanas de gestación en 30 y 71 casos, respectivamente, que posteriormente desarrollaron PE en comparación con los controles (159). Hay que tener en cuenta las diferencias en cuanto al método de medida de la leptina, en unos mediante RIA(226) y otros mediante ELISA (229)(230) y la edad gestacional de la mujer cuando se determinó la misma.

En cuanto al origen de esta elevación, se sugiere que la leptina es un marcador de hipoxia placentaria y el aumento de los niveles séricos observados en la PE pueda deberse a la subyacente alteración de la perfusión placentaria y la oxigenación encontrando que la leptina mejoraría la perfusión placentaria reducida y como consecuencia esta hormona influiría en el crecimiento fetal. Nuestros hallazgos indican que el aumento de la leptina precede al inicio clínico de la enfermedad y es evidente a partir de la semana 11-13 de embarazo por lo que parece ser un biomarcador útil en la predicción de este síndrome. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales con muestras más grandes para evaluar su utilidad clínica y para obtener más información sobre el papel de éste en la patogénesis de la preeclampsia.

- **Análisis de correlaciones en el primer trimestre**

Dada la multitud de correlaciones detectadas entre los biomarcadores del primer trimestre por la clara relación que tienen algunos de ellos, se comentarán aquéllas correlaciones significativas que afectan a los posibles predictores de preeclampsia en el primer trimestre.

Entre la leptina y el filtrado glomerular estimado a partir de la creatinina se encontró una correlación positiva moderada ($r=0,409$, $p<0,001$) aunque no se encontró correlación alguna con el FG estimado calculado a partir de cistatina C. Se ha demostrado que la leptina tiene un papel importante en control de la presión arterial, a través de una acción vasopresora que es

mediada a través de la activación del sistema nervioso simpático y un posible efecto vasorelajante natriurético y periférico de la hormona en los túbulos renales. Por lo tanto, la leptina es una hormona que además de regular la ingesta de alimentos y el gasto energético, tiene actividad natriurética a través de una estimulación de la diuresis y la natriuresis que tiene lugar a través de la inhibición de la reabsorción tubular de sodio mediante la disminución de la actividad de la Na/K ATPasa en la médula renal. En personas obesas en cambio este mecanismo regulador está alterado como consecuencia de una hiperleptinemia crónica en la que los individuos obesos se vuelven resistentes a la acción de la leptina, disminuyendo en consecuencia la natriuresis y la producción de NO, que se traduce en una elevación de la presión arterial (231).

La fosfatasa alcalina y la PCR son marcadores inflamatorios sobre los que se ha detectado una correlación positiva fuerte ($r=0,73$, $p<0,001$). La FA se utiliza rutinariamente en el diagnóstico de trastornos hepato biliares ya que entre otros lugares se sintetiza en el hígado. Además FA ha emergido recientemente como un biomarcador predictivo en el desarrollo y la progresión de la enfermedad aterosclerótica. Debido a que durante el proceso de aterosclerosis existe un aumento en la liberación de citoquinas inflamatorias como la proteína C reactiva del hígado, es lógico que aumenten en sincronía. Si consideramos de nuevo el paralelismo entre la aterosclerosis y la disfunción endotelial de la preeclampsia, la correlación encontrada entre la PCR y la FA tendría un sentido biológico plausible. No encontramos estudios que demuestren que se haya encontrado correlación alguna entre la ALP y la PCR en mujeres con preeclampsia o en riesgo, pero en cambio la ALP sí que ha sido fuertemente relacionada con la PCR en el síndrome metabólico y en la aterosclerosis (232)

De igual manera se encontró una correlación fuerte entre la aspartato aminotransferasa (AST) y la alanina aminotransferasa (ALT) ($r=0,639$, $p<0,001$). Durante el embarazo, el aumento de estradiol y progesterona progresivo afecta al metabolismo y funciones hepáticas. Fisiológicamente se detectan cambios en los valores de las pruebas de función hepática pero también puede haber cambios en estos biomarcadores como signo inicial de algunas patologías durante la gestación. El embarazo normal se asocia a un leve aumento de la concentración de fosfatasa alcalina pero la AST y la ALT se mantienen en rango normal. En cambio, en la preeclampsia tanto la AST como la ALT aumentan debido a la disfunción hepática que tiene lugar durante esta enfermedad por lo que pueden actuar como predictores en el diagnóstico de la preeclampsia en etapas tempranas del embarazo. Nosotros pensamos que este aumento se explica teniendo en cuenta que en la preeclampsia tienen lugar una variedad

de alteraciones como isquemia placentaria, vasoespasmo generalizado, hemostasia anormal con activación del sistema de coagulación, disfunción endotelial vascular, metabolismo anormal del óxido nítrico y lípidos, activación leucocitaria, cambios en la expresión de citoquinas, resistencia a la insulina etc. Posiblemente todas estas anomalías fisiopatológicas influyan en el hígado, lesionen el hepatocito y sean la causa del aumento de estas enzimas hepáticas, incluso antes de la aparición de la preeclampsia. Nuestros datos concuerdan con la bibliografía (110)(233), ya que en multitud de estudios se ha encontrado un aumento de sus valores en la preeclampsia y su correlación.

En cuanto a la relación entre el ácido úrico y la PCR este estudio mostró una correlación moderada y significativa ($r=0,468$, $p<0,001$) que está en la línea de la evidencia científica. Spahić y cols.(234) también encontraron un aumento en el nivel de ácido úrico acompañado de un aumento del nivel sérico de PCR estando ambos biomarcadores correlacionados positivamente en la preeclampsia que podría indicar un posible papel del AU como marcador de la inflamación de bajo grado (234). Sin embargo, si la hiperuricemia es la causa o el efecto de este estado inflamatorio queda por determinar y la naturaleza de tal relación permanece desconocida. En la actualidad, si el AU es un marcador de estado pro-inflamatorio o causa inflamación 'per se' sigue siendo incierto. La evidencia más actual apoya esta última hipótesis ya que el ácido úrico parece activar la proliferación de células de músculo liso vascular, estimula la respuesta pro-inflamatoria promoviendo la liberación de citoquinas por monocitos como IL-1 β , IL-6 y TNF- α y además regula la actividad de ciclooxigenasa-2 y la PCR. Lo que sí está demostrado es que la relación entre la UA y los marcadores inflamatorios es lineal en todo el rango de AU y que tal relación puede evidenciarse incluso en sujetos con AU dentro del rango normal (235). Estos hallazgos sugieren que el AU no sólo es un marcador de la tasa catabólica sino que también puede estar implicada activamente en la inflamación sistémica, que es un componente importante de la vía causal que conduce a la hipertensión, las enfermedades vasculares, la insuficiencia renal, y la preeclampsia. Por otro lado se sabe que en todas las enfermedades relacionadas con la inflamación, como es la preeclampsia, la hipoxia causa daño celular que incrementa la actividad de la enzima XO, lo que conduce a un aumento paralelo de la producción de especies reactivas, de radicales libres y citocinas (TNF- α , IL-1 e IFN- α) que pueden incrementar la producción de AU a través del estímulo de la actividad de XO, el daño celular mediado por ROS, y la promoción de la apoptosis, lo que resulta en la disfunción endotelial característica. Posteriormente el AU liberado del citoplasma el tejido local puede aumentar la respuesta proinflamatoria incluso cuando su concentración está

dentro de los límites fisiológicos normales. Esto llevaría a un círculo vicioso con relevancia patológica en la preeclampsia en presencia de condiciones predisponentes (235).

La naturaleza de la correlación hallada entre la interleucina-6 (IL-6) y la PCR parece clara ($r=0,426$, $p<0,001$) ya que los dos son proteínas de fase aguda. IL-6 es la citoquina principal implicada en la inducción de la respuesta en fase aguda, que incluye la síntesis de ciertas proteínas en el hígado, una de las cuales es la proteína C reactiva (CRP).

En cuanto a la influencia de los factores de riesgo sobre los marcadores propuestos como predictores de PE la mayoría de las correlaciones encontradas fueron débiles o muy débiles. Se detectaron así mismo tres relaciones moderadas: PCR-IMC ($r=0,455$, $p<0,001$), BT-IMC ($r=0,445$, $p<0,001$) y edad-FG CKD-EPI creatinina ($r=-0,434$, $p<0,001$).

La evidencia apoya en la actualidad que la obesidad representa un estado inflamatorio en el que se detecta una correlación positiva entre los niveles de IL-6 y de PCR con el IMC(236). Este hecho sugiere que la IL-6 puede ser secretada en forma endocrina en la masa grasa particularmente de la región abdominal, con el consiguiente aumento en la producción hepática de PCR debido a que esta proteína es liberado bajo la estimulación de citoquinas, incluyendo interleucina-6, interleucina-1 y factor de necrosis tumoral alfa (237).

Por otro lado, el IMC se relacionó negativamente con la bilirrubina sérica con concentraciones significativamente más bajas cuanto mayor era el IMC, asociación que ya ha sido reportada por varios estudios (238). Por ejemplo en un gran estudio en el Reino Unido una disminución de la bilirrubina sérica resultó evidente en hombres y mujeres con obesidad manifiesta (239). Se postula que la bilirrubina se consume en respuesta al aumento del estrés oxidativo que puede tener lugar en la obesidad pero los mecanismos exactos se desconocen (238).

Por último, la edad se correlacionó de una forma moderada con el filtrado glomerular calculado a partir de la creatinina ($r=-0,434$, $p<0,001$), lógico si consideramos que el FG se calculó a partir de la fórmula CKD-epi creatinin donde los valores de FGe se calculan a partir de la concentración de creatinina sérica utilizando las variables modificadoras de edad en años, género y raza. Esta disminución parece ser una parte del proceso fisiológico normal de la senescencia celular y del órgano y se asocia con cambios estructurales en los riñones.

5.3. *Biomarcadores en el segundo trimestre de gestación*

Respecto a los marcadores estudiados de rutina en el seguimiento de la mujer embarazada recomendados por el programa PIAM de la Región de Murcia para ser realizados en el segundo trimestre de gestación, se obtuvieron valores diferentes entre el grupo que desarrolló PE y el que no en los siguientes parámetros: Volumen corpuscular medio, creatinina (mg/dl) ALT (UI/L) y AST (UI/L). Y en relación a los biomarcadores ampliados por nuestro estudio, se encontraron diferencias significativas en la PCR (mg/dL), el MoM de PIGF y la Cistatina C (mg/L).

- **Hemograma**

En el embarazo normal, el volumen sanguíneo aumenta, lo que resulta en una hemodilución. Aunque la masa de glóbulos rojos aumenta durante el embarazo, el volumen de plasma aumenta más, resultando en una anemia relativa que hace que nos encontremos con niveles reducidos de hemoglobina, hematocrito y recuento de glóbulos rojos, pero en cambio no hay cambios en cuanto al tamaño de los glóbulos rojos, es decir, sobre el volumen corpuscular medio (240). En cuanto a si el VCM se encuentra alterado en la preeclampsia, hay controversia. Por un lado, hay estudios que han encontrado menores valores en el VCM de las mujeres con preeclampsia y con preeclampsia severa que en embarazadas sanas, mientras que, por el contrario, también hay referencias en las que no se han encontrado diferencias en los valores de VCM entre mujeres preeclámpticas y controles sanos (241). Tras la revisión realizada para esta tesis, no hemos encontrado ningún estudio en la literatura que analice el VCM como predictor de esta enfermedad ni en el primer ni en el segundo trimestre, por lo que este sería el primer estudio que ha encontrado que el VCM podría tener capacidad predictiva de preeclampsia en el segundo trimestre de gestación. Buscando una explicación a este hecho, en la llamada anemia de inflamación (AI) hay un bloqueo del hierro como mecanismo de defensa, principalmente por acción de la hepcidina estimulada por la interleucina-6 (242). La anemia inflamatoria suele ser leve o moderada, normocrómica, normocítica e hiporreticulocitaria, aunque si se mantiene el proceso puede llegar a ser microcítica e hipocroma. Esta anemia no solo acompaña procesos inflamatorios manifiestos, sino también a muchas enfermedades crónicas, a la enfermedad aguda crítica, al cáncer, al envejecimiento y por qué no a la preeclampsia, dado que ésta se caracteriza por un estatus proinflamatorio. Creemos que la reducción de la disponibilidad de hierro secundaria a la inflamación produce una eritropoyesis restrictiva en hierro, que puede ser el motivo de que las mujeres que desarrollan preeclampsia tengan cifras más bajas de VCM en comparación con las que no la

desarrollan, y que a la larga, si la enfermedad se mantuviera en el tiempo, podría desarrollar una verdadera anemia ferropénica.

- **Marcadores de función renal**

En cuanto a los marcadores de función renal, tanto la creatinina como la cistatina C fueron capaces de diferenciar entre ambos grupos, encontrando mayores niveles en el suero de aquellas mujeres que desarrollarían PE ya en el segundo trimestre de gestación. Estos dos marcadores de bajo peso molecular se utilizan para controlar la función renal en la PE pero la cistatina C ha demostrado ser mejor marcador de la TFG que la creatinina sérica particularmente en individuos con disminuciones pequeñas o moderadas en la TFG. Saleh y *cols* analizaron los valores de cistatina C y creatinina en los tres trimestres de embarazo y encontraron que las concentraciones de cistatina c en el segundo y el tercer trimestre eran diferentes y por tanto podían predecir la PE, mientras que no detectaron cambios en la creatinina sérica en mujeres que posteriormente desarrollaron PE en comparación con los embarazos normotensos (243). Estos autores tampoco encontraron diferencias en los niveles de cistatina C en el primer trimestre y afirmaron que no hay registros en la literatura que sugiera la presencia de endoteliosis antes del segundo trimestre en el embarazo normal. Dado que la cistatina C tiene una distribución extracelular generalizada en el segundo trimestre se puede elevar por una respuesta al daño tisular, pero además la isquemia placentaria induce la liberación de protinasas de cisteína lisosómicas y, en consecuencia, se elevarían los niveles en suero este biomarcador (243). Estos resultados fueron similares a otros estudios que investigaron los niveles de Cis C y creatinina en la PE en comparación con el embarazo normal (244). Pero se hizo un análisis de sus curvas ROC y ambas mostraban en el IC 95% para el estadístico C el valor 0,5, por lo que no resultaron buenos predictores de la enfermedad aunque sus niveles sí mostraban diferencias intergrupos.

- **Marcadores de función hepática**

En cuanto a los marcadores de función hepática, las transaminasas mostraron nuevamente niveles estadísticamente diferentes entre los individuos que desarrollaron PE y los que no. En el estudio de Sheiner y *cols*. que estudió los niveles de las transaminasas en la semana 20 de gestación también se observaron niveles más altos de AST y ALT asociados con un mayor riesgo de desarrollar una preeclampsia en la segunda mitad del embarazo, pero sin embargo, no existe un valor de corte clínico que pueda ser utilizado prácticamente para la predicción de la preeclampsia (245). En nuestro estudio igualmente se encontraron diferencias a nivel de los

biomarcadores pero la capacidad predictiva de AST por sí sola resultó ser pobre ya que el intervalo de confianza al 95% de su AUC contenía el valor 0,5 (0,450-0,772), y por tanto, no mostró capacidad discriminativa.

- **Marcadores de inflamación**

Entre los marcadores de inflamación, en el segundo trimestre sólo la PCR fue capaz de distinguir entre ambos grupos y se encontró una diferencia de medias de 6,6mg/L entre el grupo que desarrolló PE y el que no. El valor de la PCR en el segundo trimestre es estadísticamente significativo a un umbral del 5% y un aumento sus valores en el segundo trimestre indican un claro riesgo para el desarrollo de preeclampsia. El poder predictivo de los valores PCR en el segundo fue alto (AUC = 0,718) con un porcentaje de predicciones correctas alrededor del 77%. Como se ha visto en el análisis de los biomarcadores del primer trimestre, la PCR ha demostrado tener capacidad predictiva de PE tanto en el primer trimestre de embarazo como en el segundo, pero los niveles de PCR en el segundo trimestre mostraron un mayor poder predictivo (AUC PCR 1º trimestre: 0,687; AUC PCR 2º trimestre: 0,718).

Nuestro estudio está en la línea de los estudios realizados por Wolf y cols, Tjoa y cols. y los de Oancea y cols. (219) que sí fueron capaces de detectar diferencias en los valores de PCR en el primer y segundo trimestre de embarazo en mujeres embarazadas que posteriormente desarrollaron PE. En cambio otros autores, como Savvidou y cols. (246), no coinciden con nuestros resultados ya que no encuentran diferencias significativas en los niveles de PCR del segundo trimestre y por tanto valoran que éste analito no puede usarse como marcador predictivo de PE en el segundo trimestre(247).

- **Marcadores de angiogénesis**

Así mismo los valores en MoM de PIGF, como marcador regulador de la angiogénesis, también evidenciaron capacidad predictiva de preeclampsia en el segundo trimestre, lo cual está en la línea de evidencia científica actual que sugiere que la estimación de los niveles de PIGF es útil para la predicción de preeclampsia en el cribado combinado de esta enfermedad.

En nuestro estudio, los niveles de este biomarcador fueron significativamente menores en el grupo que desarrolló preeclampsia con respecto al grupo control, al igual que en el de Chappel y cols. (248) quienes lo estimaron a las 24 semanas de gestación. Coincidimos Ghosh SK y cols (249) y Madazli y cols. (250) en cuanto a que la determinación de PIGF muestra mayor capacidad predictiva en el segundo trimestre para la identificación de la preeclampsia. Al

contrario que lo detectado en otros estudios, como el de Gao y cols (251) o el de De Vivo y cols (252), nuestro estudio no encontró que los niveles de sFlt-1 o el ratio sFlt-1/PIGF tuvieran buena capacidad predictiva. Coincidimos con Lambert-Messerlian GM y cols. (253), que señalaron que el PIGF, pero no sFlt-1, es capaz de discriminar a aquellas gestantes que desarrollarán PE en el segundo trimestre de gestación.

El análisis de sus curvas ROC mostró que los marcadores que mejor capacidad predictiva tienen son la PCR y PIGF en MoM, ya que sus AUC son de 0,718 Y 0,715 respectivamente. Niveles inferiores a 0,95 MoM de PIGF incrementaban el riesgo de PE casi diez veces (OR 9,4, IC95% 1,1-78,5). A ese nivel la sensibilidad alcanzada sería del 88,8%, con una especificidad baja, del 54,1% lo cual resultaría en una elevada TFP del 45%. En cuanto a la PCR niveles superiores al cut off óptimo conseguido suponían tener el doble de riesgo de PE, y como prueba predictiva aislada tuvo una sensibilidad del 77,7% con una especificidad del 61,4%.

- **Análisis de correlaciones en el segundo trimestre**

Del estudio de la influencia de los factores de riesgo sobre los posibles predictores de PE en el segundo trimestre de gestación sólo se obtuvieron correlaciones muy débiles excepto entre la PCR y el IMC que mostraron una correlación moderada ($r=0,517$, $p<0,001$). La evidencia sugiere que la obesidad es un determinante del estado del inflamatorio que incluye la elevación de marcadores de inflamación entre los que está la PCR (236). Ésta es una proteína de fase aguda de la que originalmente se pensaba que era de síntesis hepática pero se sabe que hay una producción por parte del tejido adiposo y por ello la PCR es más alta en individuos obesos y predice peores resultados cardiovasculares y morbilidad cardiovascular. La PCR es predictora del desarrollo de PE y podría representar aproximadamente un tercio de la relación entre el IMC y el riesgo de preeclampsia.

5.4. Biomarcadores en el tercer trimestre de gestación

Con respecto a los biomarcadores realizados de forma rutinaria en la analítica del tercer trimestre, tan sólo el VCM mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo que desarrolló PE y el que no. En cuanto a los biomarcadores medidos a propósito para la presente tesis doctoral para valorar su capacidad predictiva hubo varios que tuvieron capacidad discriminativa siendo diferentes, de forma estadísticamente significativa, los valores en el grupo que desarrolló PE y el que en los siguientes parámetros: bilirrubina, LDH, AST, sFlt-1, PIGF, ratio sFlt-1/PIGF, Cistatina C, y Triglicéridos.

- **Hemograma**

Igual que ocurrió en el 2º trimestre, el VCM de los eritrocitos fue más bajo proporcionalmente en las mujeres que desarrollaron PE frente a las que no la desarrollaron. Durante el embarazo, el valor de MCV se ha encontrado que aumenta aproximadamente 3-5 fL. En el estudio de Sümeyra y cols. estudiaron el VCM de pacientes con diagnóstico de preeclampsia frente a los controles, y este parámetro fue menor en los grupos de preeclampsia y preeclampsia severa frente a los controles (241). En el mismo se consideró al VCM como un buen predictor de preeclampsia ya que mostró un AUC de 0,654, que fue por otra parte muy similar al obtenido en nuestra población, de 0,698. Este mismo estudio mostró que estableciendo el cut off en 84,4 fL, se conseguía una sensibilidad del 74,5 y una especificidad de 56,1% (241), mientras que para ese mismo cut off nuestro estudio obtendría un 52% de sensibilidad y un 85% de especificidad. En contraposición, también hay estudios que evidencian lo contrario, no hallando diferencias en los valores de VCM entre las mujeres preeclámplicas y los controles (233). Como se sabe, el estado nutricional (por ejemplo, deficiencia de hierro) y los hábitos alimenticios pueden afectar al VCM, por lo que analizamos la correlación entre el hierro en los tres trimestres y el VCM, pero no se encontró una correlación significativa entre ellos y por ello no parece que la reducción del VCM en las mujeres con preeclampsia se deba a una carencia de hierro.

- **Marcadores de función hepática**

Resulta llamativa la elevación de los marcadores de hemólisis (Bilirrubina, LDH y las transaminasas) del grupo de pacientes con preeclampsia respecto a las gestantes sanas en el tercer trimestre. Cualquier factor que cause daño en el endotelio de los pequeños vasos o que cause depósito de fibrina en estos microvasos, tiende a presentar puntos de impacto donde el glóbulo rojo circulante se fragmenta con la consecuente lisis celular. En la preeclampsia como hemos visto tiene lugar una disfunción de la microcirculación, que se manifiesta muchas veces como anemia hemolítica microangiopática y que se caracteriza por la presencia en el frotis de sangre periférica de formas anormales eritrocitarias como esquistocitos, dacriocitos y eritrocitos fragmentados y a nivel bioquímico por la elevación de LDH, disminución en los valores séricos de haptoglobina, elevación de bilirrubina y de enzimas hepáticas. Además, la hipoxia placentaria también explicaría estos resultados ya que la hipoxia conduce a una mayor estimulación de la eritropoyesis mediante una mayor síntesis de eritropoyetina, que puede hacer que los eritrocitos inmaduros entren en la circulación y, dado que no han madurado correctamente tienen mecanismos de reparación pobres, y por lo tanto, pueden ser destruidos

por cualquier evento menor (241). Por último el proceso inflamatorio que caracteriza la preeclampsia desde sus orígenes también causa la destrucción de los glóbulos rojos por reacción con los radicales de oxígeno y las enzimas proteolíticas. Estos tres mecanismos explicarían la mayor destrucción que sufre el hematíe en las mujeres con preeclampsia lo cual producirá un aumento en los niveles de algunos marcadores como LDH, bilirrubina o de enzimas hepáticas (consecuencia de la hemólisis o del daño hepático ya comentado) (254).

- **Marcadores de angiogénesis**

De forma similar a cómo los niveles bajos de PIGF y altos de sFlt-1 han sido propuestos como marcadores predictores de PE en el primer o segundo trimestre, un estudio realizado por Chaiworapongsa y cols. (255) estudiaron en el tercer trimestre la relación entre diferentes factores angiogénicos y su precisión para predecir la preeclampsia, y observaron que una relación PIGF/sFlt-1 menor a 0,3 MoM tenía un OR para la detección de la preeclampsia tardía de 6,1 [IC del 95%, 3,1-11,8] y para la preeclampsia grave de 12,2 (IC del 95%, 4,6-32) mostrando una sensibilidad del 74% a 78%, respectivamente, y una especificidad de 84% con un AUC de 0,88 y 0,86. Otro estudio de cribado prospectivo realizado por Valino y cols. (256) encontró que, en el tercer trimestre (específicamente a 30- 34 semanas), estos marcadores presentan individualmente valores predictivos deficientes, pero cuando se combinan con el IP de la arteria uterina y con la PAM presentan una tasa de detección del 97,5% con una tasa de falsos positivos del 10% para la predicción de la preeclampsia antes de las 37 semanas o del 55,8% preeclampsia después de 37 semanas (AUC de 0,992). En el estudio de Ohkuchi y cols. (252) utilizando los valores de corte del percentil 2,5 del PIGF y de 97,5 para sFlt-1 y de la relación sFlt-1 / PIGF, el LR + de sFlt-1, y la relación sFlt-1 / PIGF a las 26-31 semanas de gestación para predecir todos los PE fueron 7,1, y 5,7, respectivamente. Se ha demostrado por lo tanto que las concentraciones de PIGF permanecen bajas y las de sFlt-1 altas durante todo el embarazo en mujeres que desarrollan PE (12) y a la vista de los estudios recogidos y el nuestro la aparición de PE puede ser predicha por PIGF y la relación sFlt-1 / PIGF a principios del tercer trimestre (252) La utilidad de este test en el tercer trimestre radicaría en que posibilita la reevaluación del riesgo usando otros valores de corte y ayuda al diagnóstico y detección de embarazos que pronto desarrollarán pre-eclampsia permitiendo mejorar los resultados perinatales a través de la administración de medicación antihipertensiva y una programación del parto adecuada.

- **Marcadores de dislipemia**

Como se ha indicado también se encontraron niveles más altos de TG entre la semana 32-34 de embarazo de las mujeres con preeclampsia frente a las gestantes sanas. Nuestro estudio coincide con los hallazgos de Agarwal *y cols.* Equobohrie *y cols.*, y Cekmen *y cols* (257), que encuentran niveles incrementados de TG en las mujeres con preeclampsia frente a los controles en el tercer trimestre. En el embarazo, la lipólisis de las lipoproteínas ricas en TG se reduce debido a la disminución de las actividades lipolíticas de la madre y por eso los rangos de referencia para los TG en la gestante son diferentes. En la PE la vascularización de la unidad fetoplacentaria puede verse afectada y mecanismos compensatorios aún no definidos pueden aumentar aún más síntesis de los niveles de triglicéridos maternos a la par que se da una disminución del catabolismo de las lipoproteínas ricas en TG por reducción de la lipólisis placentaria. Todo esto resulta en la acumulación de lipoproteínas remanentes ricas en TG en la circulación sanguínea que pueden llevar a una activación plaquetaria y disfunción endotelial que conllevaría a los síntomas clínicos característicos de la PE. Enquobahrie *y cols.* y Gractacose *y cols.*, (258) concluyeron que la hipertrigliceridemia es probablemente una consecuencia de la competencia entre quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) por la lipoproteín lipasa y por ello la concentración sérica de TG aumenta mucho más significativamente en el embarazos con preeclampsia.

Los resultados de un reciente metanálisis (145) indican las mujeres que desarrollan preeclampsia tienen significativamente elevados los niveles de mediciones de colesterol total, triglicéridos y no HDL-C desde el primer trimestre y por lo tanto, estas mediciones de lípidos pueden ser útiles en la identificación de mujeres con mayor riesgo de desarrollar preeclampsia. En nuestro caso las diferencias estuvieron presentes desde el primer/segundo trimestre en los casos de colesterol total, triglicéridos y colesterol LDL, pero hasta el tercer trimestre no se alcanzó significación estadística, que sólo fue obtenida por los triglicéridos. Este hallazgo es clínicamente útil ya que los niveles de lípidos maternos se pueden medir fácilmente en todos los laboratorios clínicos con paneles lipídicos de rutina bien establecidos que resultarían de bajo coste y que podría servir como un método rentable para la identificación de las mujeres embarazadas en riesgo de desarrollar preeclampsia.

- **Marcadores de función renal**

Siguiendo la línea de lo ocurrido en el segundo trimestre con los marcadores de función renal, tanto la cistatina C como la creatinina mostraron niveles más elevados en las pacientes que

desarrollaron PE con respecto a las gestantes sanas, pero esta vez sólo la cistatina C alcanzó significación estadística y se encontró una diferencia de medias de 70ng/mL en el tercer trimestre entre el grupo que desarrolló PE y el que no. Si fisiológicamente los niveles plasmáticos de proteínas de baja masa molecular, como la microglobulina y cistatina C se incrementan en el tercer trimestre del embarazo normal, en la preeclampsia se incrementan aún más ya que una función renal alterada es un componente esencial de la fisiopatología de la preeclampsia.

La cistatina C, introducida por primera vez en 1985, ha emergido como mejor marcador de la TFG que los marcadores tradicionales, desplazando a la creatinina sérica como marcador de elección para la valoración de la función renal en algunas situaciones clínicas como es el embarazo. La cistatina C puede utilizarse como marcador no sólo del deterioro de la función renal, sino también como indicador del grado de endoteliosis glomerular y el aumento del volumen glomerular durante el embarazo y por lo tanto, puede ser de valor en el monitoreo de embarazos complicados por PE (140).

Nuestros datos coinciden con la evidencia científica que avala que los niveles de cistatina C se encuentran más elevados a partir del segundo trimestre debido a que no hay literatura que sugiera presencia de endoteliosis antes del segundo trimestre en el embarazo normal. El estudio de Saleh *y cols.* (243) es un ejemplo en el que destacan mayores niveles de cistatina C en las pacientes que desarrollaron PE frente a las que no con valores medios de 0,76 mg / L y 0,53 mg / L ($p = 0,008$) respectivamente en el tercer trimestre y al igual que ellos no hemos obtenido diferencias significativas a nivel de la creatinina (76,1 Umol / L vs 65,5 Umol / L, $p = 0,066$) (243). Strevens *y cols.* demostraron que la endoteliosis en la preeclampsia, que causa una reducción en la tasa de filtración en la barrera glomerular, está en estrecha relación con una disminución en la filtración de moléculas medianas (una de ellas es la cistatina C) durante el último trimestre de gestación(244).

Como conclusión creemos que la monitorización de la función renal sería más conveniente empleando la cistatina C ya que es menos dependiente de la masa corporal y su aumento desde el segundo trimestre podría reflejarnos un cambio temprano en la TFG, anterior a la aparición del síndrome clínico.

Mediante el análisis de curvas ROC se obtuvo que la aspartato aminotransferasa es el biomarcador con mejor valor predictivo, con un área bajo la curva de 0,929, lo que le hace ser un test con muy buena capacidad predictiva cuando se usa en el tercer trimestre de gestación.

Estableciendo un punto de corte en 20,5 UI/L se obtuvo el máximo índice de Youden que garantiza la mejor combinación de sensibilidad y especificidad, que fue de 90% y 88% respectivamente, para una TFP del 12% y de hecho niveles superiores en el tercer trimestre al citado punto de corte supusieron en nuestro grupo de mujeres un riesgo 72 veces mayor de padecer preeclampsia (OR:72, IC95% 13,7-378). Si por el contrario estableciéramos el cut off en 40UI/L, niveles superiores a ese punto tuvieron una sensibilidad muy baja, del 15%, con una perfecta especificidad, del 100%.

- **Análisis de correlaciones en el tercer trimestre**

La correlación encontrada entre la cistatina y la creatinina resulta lógica al ser ambos marcadores de función renal. De igual manera ocurre con AST y ALT así como con la AST y la bilirrubina que muestran una correlación moderada como buenos marcadores de daño hepático que son.

Es importante señalar la moderada correlación inversa entre sFlt-1 y PlGF, concordante con la fisiología de un embarazo normal: cuanto mayor es el sFlt-1, menor será el PlGF. sFlt-1 es el receptor del PlGF y al unirse a él impide su funcionamiento adecuado que culmina con disfunción endotelial. Recordemos que existen dos formas de este receptor: el de tirosina quinasa unido a la membrana placentaria, el cual transmite las señales angiogénicas (Flt1), y la forma soluble (sFlt-1), cuya única función importante es la captura del VEGF y PlGF. Como a este sFlt-1 le falta el dominio citosólico, su función es restringir o reducir las concentraciones libres del VEGF y PlGF, que son accesibles para interactuar con el receptor Flt1 y por tanto en sí tiene una función antiangiogénica. Por este motivo al aumentar el sFlt-1 descenderán los niveles de PlGF libre (259).

5.5. Evaluación de la influencia de las características clínicas y demográficas de los pacientes sobre los marcadores propuestos como predictores de PE.

En cuanto a la influencia de las variables clínicas sobre los biomarcadores analizados a nuestro parecer destacan los siguientes hechos:

El FG estimado fue más bajo en las gestantes con una PAD más alta así como los niveles de cistatina C fueron más elevados en las gestantes con PAS por encima de 120mmHg en el primer trimestre de gestación. La disminución del FG y el aumento de los marcadores bioquímicos de función renal es natural que se corresponda con un aumento recíproco de la

presión arterial, que permita mantener el equilibrio del sodio y la homeostasis del volumen del fluido corporal (260).

En relación a la diferencia de medias obtenida entre los niveles de leptina en función de la PAS (mayores o menores de 120 mmHg), se sabe que los individuos con mayores niveles de leptina tendrían una mayor activación simpática, especialmente en el riñón, que puede conducir a la retención de sodio, vasoconstricción sistémica y elevación de la presión arterial (231). En consecuencia, se considera actualmente que la leptina juega un papel importante en el desarrollo de la hipertensión, sobretodo en la obesidad, y explicaría los datos encontrado a este nivel.

Niveles más elevados de Lipoproteína (a) también fueron detectados en los pacientes con PA >120mmHg con respecto a los que tuvieron PA<120mmHg. Es sabido que niveles altos de lipoproteína (a) son predictores y posibles causas de muchas formas de enfermedad vascular (261). Esto se debe a que la lipoproteína (a) causa disfunción endotelial y disminución de la elasticidad arterial, que como consecuencia aumenta del riesgo de enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica e hipertensión arterial (262).

En cuanto a los marcadores de inflamación, se encontraron niveles más elevados de PCR en aquellas pacientes con PAD más altas, lo cual concuerda con un amplio metanálisis de 54 estudios prospectivos donde la PCR fue positivamente correlacionada con la presión arterial sistólica y diastólica (117). La hipertensión y enfermedad vascular en general, son enfermedades inflamatorias y, de hecho, se ha demostrado que los niveles de PCR predicen el desarrollo de hipertensión. Además de actuar como un biomarcador de la salud vascular, la PCR parece tener un papel directo en el proceso de la enfermedad vascular ya que la evidencia apunta a una participación directa de la inflamación en la iniciación y progresión de la hipertensión mediante una interacción compleja entre las células, citoquinas, moléculas de adhesión, especies reactivas de oxígeno, el sistema renina-angiotensina-aldosterona y el sistema nervioso.

Con respecto al hábito de fumar, nuestros datos armonizan con los reportados anteriormente en cuanto a que los niveles de PIGF fueron más altos en las fumadoras en comparación con las gestantes no fumadoras. Fumar se ha asociado con una variedad de efectos dañinos sobre la salud humana, uno de los cuales es un mayor riesgo de resultados adversos en el embarazo (como desprendimiento placentario, parto prematuro y bajo peso al nacer) ya que modifica aspectos importantes de la función placentaria. Paradójicamente, también ha sido documentado un efecto protector del hábito tabáquico durante el embarazo en la incidencia

de preeclampsia, efecto que ha sido verificado por un importante número de grupos (208). El mecanismo biológico subyacente aún no se ha establecido de forma robusta pero parece que se debe a una alteración en los factores angiogénicos circulantes. Un estudio reciente sugirió que la nicotina aumenta la secreción de PlGF a través del aumento en la expresión del gen de PlGF en una línea celular de trofoblasto (208). En muchos estudios se demuestra que los niveles de sFlt-1 en los fumadores son menores que en los no fumadores, mientras que los niveles de PlGF en las mujeres que fumaban durante el embarazo son más altos que las embarazadas no fumadoras en el primer trimestre de embarazo, e incluso, después de dejar de fumar (263). Nuestros resultados fueron consistentes con estos datos, lo que indica que en mujeres embarazadas los factores angiogénicos de los fumadores cambian hacia un fenotipo pro-angiogénico.

El hecho de que los niveles de sFlt-1 fueran más elevados en las gestantes con diabetes se encuentra bien respaldado con la evidencia más actual que ha mostrado niveles de sFlt-1 más altos en mujeres diabéticas (264), lo cual a su vez podría en parte explicar por qué las gestantes diabéticas tienen mayor riesgo de desarrollar preeclampsia. En la revisión bibliográfica realizada, pocos son los estudios que investiguen la expresión de sflt-1 en mujeres diabéticas frente a no diabéticas. Cohen y cols. documentaron que las mujeres con diabetes tuvieron un estado antiangiogénico marcadamente alterado, que se exacerbó aún más en los sujetos que desarrollaron PE y expusieron que los factores angiogénicos alterados podían ser un mecanismo posible para el aumento del riesgo de PE en la población diabética (265).

Siguiendo con la importancia del sFlt-1 en la preeclampsia, este marcador de angiogénesis también se encontró aumentado tanto en el primer como el segundo trimestre en mujeres nulíparas en comparación con las multíparas de nuestra población. Como bien sabemos, la preeclampsia es mucho más común en el primer embarazo, pero el mecanismo de esta asociación es desconocido. Por ello estudiamos el comportamiento de todos los biomarcadores estudiados en función de este factor materno, y hemos podido demostrar que las mujeres nulíparas tienen un aumento de los niveles de sFlt-1 en comparación con las multíparas, lo que sugiere una elevación general de la antiangiogénesis relativa durante los primeros embarazos. Éste hecho podría ser un mecanismo molecular potencial que explicara el vínculo epidemiológico entre el mayor riesgo de PE en las mujeres nulíparas. Nuestros datos coinciden con los reportados por Wolf y cols. (266) que estudiaron 97 mujeres normotensas con muestras pareadas de suero de embarazo temprano de mujeres nulíparas y multíparas y encontraron al igual que nosotros niveles significativamente más altos de sFlt-1 en comparación con los siguientes embarazos. Bdoлах y cols. igualmente trataron de proponer un

mecanismo plausible que explicara el aumento del riesgo de PE que tenían las gestantes nulíparas y confirmaron una alteración en los factores angiogénicos circulantes mostrando que las mujeres nulíparas tenían un 25% más de sFlt-1 circulante. La etiología de los niveles relativamente más altos de sFlt-1 y de la relación sFlt-1/PIGF en mujeres nulíparas no se conoce pero dado que las arterias espirales de las mujeres nulíparas no han sido remodeladas previamente, se podría esperar encontrar más hipoxia en sus placentas, que provocaría un aumento en la expresión de sFlt-1 mediada por el factor de transcripción inducible por hipoxia (267).

Las alteraciones en la expresión de factores angiogénicos no sólo explicaría el mayor riesgo que supone la nuliparidad para la preeclampsia sino que también aclararía varios de los factores de riesgo observados para la PE entre los que están los embarazos molares, trisomía 13 y gestaciones múltiples (267).

5.6. Modelos de predicción de riesgo de PE

La idea de buscar biomarcadores predictivos de preeclampsia sobre una población de riesgo radica en que si fuéramos capaces de establecer sobre estas mismas pacientes categorías de riesgo se podría llevar una vigilancia más o menos estrecha en función a la pertenencia a una u otra categoría. Por ello con la búsqueda de un modelo predictivo en el primer trimestre queremos llegar a identificar entre las mujeres en riesgo a aquéllas con mayor probabilidad de tener preeclampsia. En el segundo y tercer trimestres, el uso de un algoritmo que sea capaz de reevaluar y monitorizar el riesgo de padecer preeclampsia permitiría revalorizar la probabilidad de sufrir este síndrome con el fin de identificar los embarazos en los que una intervención oportuna pueda mejorar los resultados maternos y perinatales y, además, en muchos casos será posible transmitir tranquilidad a la paciente ante una reducción del riesgo. Se debería así mismo valorar la utilidad de este nuevo algoritmo sobre una población de mujeres sin riesgo inicial, que no se presentaron al cribado del primer trimestre, para darles una nueva oportunidad de evaluar su riesgo de padecer preeclampsia durante el embarazo.

Para ello elaboramos un modelo predictivo para cada trimestre de gestación que predijese la probabilidad o riesgo de que una gestante con riesgo de PE tuviese preeclampsia a lo largo del embarazo. Según un estudio prospectivo realizado por grupo del profesor Nicolaides en el Hospital King's College de Londres, la herramienta de cribado con la que se seleccionó a las mujeres de riesgo de padecer preeclampsia alcanza en el primer trimestre una tasa de

detección de alrededor del 95% y una TFP del 10% (98). Los datos en nuestro estudio ponen de manifiesto que empleando dicha herramienta 4 de cada 5 mujeres no sufrirán preeclampsia, cifra a la que se ha llegado tras tratar a parte de la población con aspirina.

Los modelos fueron obtenidos mediante regresión logística binaria en el que se tomó como variable dependiente el diagnóstico de preeclampsia.

Los porcentajes en los que los modelos explicaban la probabilidad de presentar preeclampsia fueron de respectivamente para los modelos 1T, 2T y 3T del 91,4, 84,9, 87,9%. Estos datos concuerdan con las AUCs obtenidas para cada modelo, de entre las cuales, todas resultaron significativas (0.953, 0.757, 0.907; $p < 0.001$, 0.048, 0.006, respectivamente). Al comparar la capacidad predictiva de los modelos con los biomarcadores aislados, cuantitativamente las AUCs de los tres modelos fueron superiores a cualquier AUC aportada por cualquier biomarcador con capacidad predictiva en solitario aunque en todos los casos no hubo diferencias significativas.

- **Modelo predictivo de preeclampsia en el primer trimestre**

Hasta hoy, las principales sociedades internacionales siguen recomendando la valoración de los factores de riesgo para estimar la probabilidad que tiene una mujer gestante de padecer preeclampsia. Lo cierto es que esta valoración resulta ineficiente ya que es muy común la presencia de algún factor de riesgo en el primer control de la gestación tales como la nuliparidad, edad materna avanzada o sobrepeso, que puede llegar a estar presente hasta en dos tercios de todas las embarazadas. Por ello, la identificación mediante factores de riesgo lleva a una cantidad ingente de gestantes de alto riesgo obstétrico inabarcable para cualquier consulta de seguimiento intensivo. Ahí radica la utilidad del diseño de modelos predictivos de preeclampsia que acoten una población de embarazadas más pequeña de mujeres de mayor riesgo de preeclampsia con una mayor capacidad predictiva que el simple uso de factores de riesgo obstétrico.

Un sistema de cribado, bien sea para la preeclampsia o para cualquier condición, debe ser rápido, no invasivo, barato, fácil de realizar, reproducible y accesible para la mayoría de pacientes, con una buena tasa de detección y una baja tasa de falsos positivos. El algoritmo de la FMF aplicado marca un riesgo para cada gestante mediante la combinación de una serie de características maternas (edad materna, IMC, raza, hipertensión crónica, diabetes mellitus, lupus eritematoso sistémico, síndrome antifosfolípido, historia materna o personal de preeclampsia, concepción por técnicas de reproducción asistida), biofísicas (PAM, Doppler IP

AUt) y bioquímicas (PIGF y PAPP-A) tiene sus limitaciones ya que según nuestros datos con este método de cribado y prevención, más de 4 de cada 5 gestantes no desarrollarán PE y 9 de 10 no van a desarrollar una PE precoz y serán sometidas a un seguimiento intensivo.

A nuestro parecer resulta esencial la precocidad en el cribado de la PE pero ésta lleva a aminorar la capacidad predictiva debido a que los cambios que predicen la aparición de una PE serán más evidentes cuanto más avanzada se encuentra la gestante y más cerca está del debut clínico de la enfermedad. Aun así, al final del primer trimestre ya pueden ponerse ya de manifiesto algunas alteraciones bioquímicas y por ello decidimos estudiar los biomarcadores en el mismo momento en el que se toma la muestra para la analítica del primer trimestre. De esta forma en un mismo día y con una misma muestra se realizaría el screening de aneuploidías y el de preeclampsia, evitando un mayor número de visitas a la gestante.

La evidencia pone de manifiesto que los marcadores bioquímicos por sí sólo no tienen suficiente capacidad predictiva pero cuando se emplea una combinación de diferentes marcadores con otras variables maternas sí se han conseguido excelentes resultados en la predicción de la PE. En nuestro análisis de regresión logística con variables del primer trimestre, la combinación más efectiva ha resultado contener a dos biomarcadores, la IL-6 como marcador de inflamación y la Lp(a) como marcador de dislipemia. La tasa de detección de PE por mediante el uso exclusivo de IL-6 y Lp(a) en suero a las 11-13 semanas de gestación sobre una población de mujeres en riesgo de preeclampsia tuvo una tasa de detección de un 100% para PE pretérmino, cuyo parto fue con menos de 37 semanas, y de 91,6% para todos los casos de PE, para una tasa de falsos positivos del 16,6% y del 5,8% respectivamente. Estos resultados creemos que muestran buenas cualidades predictivas ya que si por ejemplo lo comparamos con los reportados por en estudios previos como el de Akolekar y cols., obtuvieron una tasa de detección para PE pretérmino, que requirió parto con menos de 37 semanas de gestación, del 71,5% y para todos los casos de PE del 56,6%, para una tasa de falsos positivos del 10%. Siguiendo sus pasos hemos seguido su criterio de tratar a la edad gestacional en el parto como una variable categórica continua y no arbitraria ya que hoy día a la hora de predecir la PE se tiende a considerar la PE como una única entidad, no diferenciando entre las formas precoces ni tardías, y recomiendan que más bien debería dividirse de acuerdo con la edad gestacional al momento del parto, considerando a la PE como una entidad fisiopatológica única, con amplio espectro de gravedad manifestada en la edad gestacional al parto (86). Posteriormente comparamos la capacidad predictiva del modelo del primer trimestre con la de los biomarcadores que habían mostrado buenas características predictivas en el análisis univariado.

El modelo combinado propuesto mostró un área bajo la curva muy bueno, de 0,953 que mostró superioridad frente a los biomarcadores que mostraron capacidad predictiva (Lipoproteína (a), AST, ácido úrico, β -hCG, PAPP-A, IL-6, LDH, Leptina, PCR) con diferencias estadísticamente significativas entre sus AUC.

Los hallazgos de la presente tesis ponen de manifiesto que es posible realizar un screening en dos etapas, mediante el cribado inicial del riesgo a través del algoritmo combinado propuesto por la FMF con la posterior reevaluación del riesgo mediante la ecuación que proponemos, con el único fin de categorizar de forma más precisa el riesgo de padecer PE. Mientras que el cribado inicial nos lleva a una población de riesgo en la que 4 de cada 5 mujeres no sufrirán preeclampsia, mediante el algoritmo matemático diseñado conseguimos llegar a una población de mayor riesgo ya que 3 de cada 4 desarrollará PE y además sólo 1 gestante de cada 66 será clasificada incorrectamente en el grupo de bajo riesgo cuando verdaderamente desarrollará PE.

El screening que proponemos podría definirse como cribado combinado en dos etapas, en el que en la primera etapa se emplearía el cribado propuesto por la FMF y en la segunda, a las mujeres que hayan dado riesgo según ese primer algoritmo, se les ampliarían dos pruebas más de laboratorio de forma automática. A día de hoy es muy sencillo gracias a los programas informáticos de laboratorio la generación de pruebas reflejas que se originen tras la obtención de resultados concretos de otras variables. En nuestro caso la creación de la Lp(a) e IL-6 y el posterior cálculo del riesgo de forma automatizada, cuando se haya encontrado un riesgo inicial alto, podría mejorar el rendimiento diagnóstico a la vez que resultaría más económico que si se realizaran éstas determinaciones a todas las gestantes.

Estos dos analitos son simples marcadores de laboratorio disponibles en la actualidad en gran parte de los laboratorios asistenciales con los que podríamos seleccionar aquellas gestantes con mayor probabilidad de padecer una PE para llevar sobre ellas una vigilancia más estrecha que sobre el resto de mujeres y así concentrar los esfuerzos en aquellas gestantes en las que el cribado resultara positivo y disminuir la ansiedad en el considerable grupo de embarazadas en el que resultara negativo.

Tanto la IL-6 como la Lp(a) se pueden considerar marcadores de disfunción endotelial ya que la mayor inflamación encontrada en las mujeres con preeclampsia surge en parte como consecuencia de la activación del endotelio que conlleva la expresión/secreción de citocinas, como la interleucina 6. Por su parte, la Lp(a) ha sido utilizado como predictor de muchas formas de enfermedad vascular y se cree que en la preeclampsia produce daño extendido a las

células endoteliales, actuando a niveles altos como proteína de fase aguda y como vehículo para depositar el colesterol en el sitio de la disfunción endotelial. La disfunción endotelial se considera en la actualidad un proceso clave para el desarrollo de la preeclampsia. El endotelio, una monocapa de células que recubre la pared luminal de los vasos sanguíneos, regula la interacción de las células y las proteínas circulantes con las células residentes en la pared vascular, ejerciendo un papel central como sensor y transmisor de señales. El endotelio protege la pared arterial frente al desarrollo de lesiones y contribuye a la homeostasis vascular a través de ese control continuo de los estímulos que recibe y la adaptación de su estado funcional. Diversos factores pueden modificar las funciones del endotelio y provocar lo que se conoce como disfunción endotelial que puede definirse como un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, la vasoconstricción y el incremento de la permeabilidad vascular, y que puede facilitar el desarrollo de arteriosclerosis, agregación plaquetaria, trombosis y durante el embarazo, de preeclampsia(268).

Una limitación en esta tesis ha sido el reducido número de pacientes estudiado por lo que creemos que se debería valorar su utilidad en un estudio con un mayor número de pacientes. De esta forma quizás se conseguiría someter a una vigilancia estrecha y tratamiento preventivo con aspirina a un menor número de pacientes.

- **Modelo predictivo de preeclampsia en el segundo trimestre**

Igual que hicimos con los marcadores del primer trimestre, estudiamos todos los biomarcadores y variables maternas que habían mostrado diferencias significativas entre el grupo que desarrolló PE y el que no. Tras la optimización del modelo de regresión, las variables finalmente incluidas en el modelo final fueron AST del segundo trimestre, como parámetro bioquímico, y el IMC al inicio de la gestación, como variable materna, ya que fueron las únicas variables mantuvieron su significación estadística y se consideraron clínicamente importantes para el modelo. Con estas dos variables, el modelo tiene una capacidad de clasificar correctamente al 84,9% de los casos analizados pero, sin embargo, el modelo clasifica mejor a las gestantes que no tendrán PE que a las que sí la tendrán. Posteriormente, el valor diagnóstico del algoritmo de comprobó mediante la elaboración de curvas ROC (receiver operation characteristics) presentando un área bajo la curva (AUC) en la predicción de la preeclampsia de 0,757 en la población de estudio, pero teniendo en cuenta que se considera un nivel de rendimiento de AUC a partir de 0,8 como el umbral mínimo para la aceptación en la práctica clínica, no tendría suficiente capacidad predictiva como para ser recomendado.

Utilizando el punto de corte optimizado mediante el índice de youden, mostró una escasa tasa de detección del 63,3% con una tasa de falsos positivos del 16,6%. Con estos resultados parece que el algoritmo no permitiría identificar a los pacientes que desarrollaron preeclampsia con suficiente precisión.

Posteriormente comparamos la capacidad predictiva del modelo del 2ºT con la de los biomarcadores que habían mostrado buenas características predictivas en el análisis univariado. Aunque no observamos diferencias estadísticamente significativas, parece que el algoritmo del modelo combinado del segundo trimestre aporta los mejores resultados en comparación con las variables bioquímicas cuando se emplean de forma aislada (VCM, ALT, PCR, PIGF) de acuerdo a los valores superiores de AUC.

Resulta obvio que lo ideal sería trabajar con pruebas diagnósticas de alta sensibilidad y especificidad, pero esto no siempre es posible. En general, las pruebas de screening deben ser de alta sensibilidad para poder captar a todos los enfermos. Una prueba muy sensible será especialmente adecuada en aquellos casos en los que el no diagnosticar la enfermedad puede resultar fatal para los enfermos, o en enfermedades en las que un falso positivo no produzca serios trastornos psicológicos o económicos para el paciente (269). En la preeclampsia resulta más importante tener una prueba con alta sensibilidad para la evaluación del riesgo ya que los resultados falsos negativos podrían ser más perjudiciales que los falsos positivos y puede ser razonable considerar un umbral de riesgo más bajo. En cambio ante una baja sensibilidad, se pueden ocasionar perjuicios a las mujeres clasificadas erróneamente como de bajo riesgo, como ser asignados a programas de atención prenatal de menor intensidad. Por el contrario una mayor vigilancia y asignación de aspirina a las mujeres de bajo riesgo para la enfermedad también podría conducir a daños adversos.

Con el test diseñado en el segundo trimestre no conseguimos una elevada sensibilidad, por lo que no garantizaríamos con esta prueba una adecuada valoración del riesgo de las pacientes que desarrollan preeclampsia que podría ser perjudicial a la hora de someter a una valoración y seguimiento menos estrecho a pacientes que verdaderamente lo necesitan. Por ello creemos que este test carece de utilidad en la práctica clínica a día de hoy ya que la sensibilidad del modelo es demasiado bajo para proporcionar un cribado eficiente.

- **Modelo predictivo de preeclampsia en el tercer trimestre**

Del mismo modo que hicimos en los anteriores trimestres, estudiamos los biomarcadores y variables maternas que habían mostrado diferencias significativas entre el grupo que

desarrolló PE y el que no. Tras la optimización del modelo, las variables incluidas en el modelo final fueron AST del tercer trimestre como parámetro bioquímico, y como variable materna el IMC al inicio de la gestación, ya que fueron las únicas variables mantuvieron su significación estadística y se consideraron clínicamente importantes para el modelo, que se intentó que fuera lo más reducido posible y explicase los datos sin compromiso del rendimiento diagnóstico. Como vemos el modelo predictivo del tercer trimestre al que llegamos después del proceso de optimización fue exactamente igual que el propuesto en el segundo trimestre, pero utilizando los niveles de AST de la semana 30-32 de gestación.

En este caso el modelo presentó una mejor capacidad predictiva de preeclampsia cuyo valor diagnóstico se comprobó mediante la elaboración de curvas ROC. El modelo fue altamente preciso en la predicción de la preeclampsia con un área bajo la curva de 0,937 en la población estudiada. Utilizando el punto de corte optimizado mediante el índice de youden, mostró una tasa de detección del 100% con una tasa de falsos positivos del 23,0%. Con estos resultados parece que el algoritmo permitía identificar a los pacientes que desarrollaron preeclampsia con una buena precisión.

Aunque no observamos diferencias estadísticamente significativas, parece que el algoritmo del modelo combinado del segundo trimestre aporta los mejores resultados en comparación con las variables bioquímicas cuando se emplean de forma aislada de acuerdo a los valores superiores de AUC que fueron de 0,929 para la AST, 0,841 para el PIGF y de 0.823 para el sFlt-1.

La utilidad del cribado en el tercer trimestre mediante este algoritmo predictivo recaería en aquellas pacientes que dieron en el cribado del primer trimestre riesgo de PE y a las que una reevaluación de su riesgo de padecer preeclampsia les podría llevar a mostrar en este momento una baja probabilidad de preeclampsia con lo probablemente disminuiría cierta inquietud generada y se podría valorar el que estas pacientes fueran sometidas a un seguimiento menos exhaustivo. A las que siguen dando riesgo de preeclampsia, habría que someterles a un seguimiento intensivo hasta que concluya el embarazo por su alta probabilidad de sufrir la enfermedad. Con esta herramienta 3 de cada 5 mujeres clasificadas como en riesgo no sufrirán PE pero sólo 1 de 50 será clasificada incorrectamente en el grupo de bajo riesgo cuando realmente desarrolle PE.

El mecanismo que hace que la AST esté elevada se debe, por una parte, a una hipervascularización y la vasoconstricción del hígado que conduce a la lesión celular, alteración de la permeabilidad de la membrana y daño a los hepatocitos. Por otra parte, el AST también

se encuentra en otros órganos como el corazón, el músculo esquelético, los riñones, el cerebro y los glóbulos rojos y por tanto los valores incrementados de AST en el grupo que desarrolla PE también serán debidos, entre otros motivos, a la hemólisis que puede tener lugar en el transcurso de la preeclampsia (73).

5.7. Eficacia del tratamiento con AAS para la prevención de la de PE en gestantes de alto riesgo.

La obstetricia moderna se dirige hacia la identificación de mujeres con alto riesgo de preeclampsia a principios del embarazo con el fin de iniciar intervenciones que disminuyan la prevalencia de esta patología durante el embarazo.

Desde que en 1979 salió el primer estudio que demostró que la toma de aspirina durante el embarazo disminuía el riesgo de preeclampsia mucho se ha investigado sobre este tema. A partir de entonces más de 30 ensayos clínicos han evaluado el beneficio del uso de aspirina a dosis bajas (50-150 mg /día) para la prevención de la preeclampsia. Un metanálisis recogió todos estos resultados y quedó demostrado que dicha terapia reducía la incidencia de preeclampsia en un 10% (270)(95). La importancia del momento de inicio del tratamiento también ha sido evaluada, y otro metaanálisis puso de manifiesto que cuando se inicia en o antes de la semana 16 de gestación se reduce a la mitad la prevalencia de preeclampsia, mientras que cuando se inicia de forma posterior a la semana 16 de gestación, no se observa beneficio significativo (271). Probablemente, el tratamiento debe comenzar antes de las 16 semanas de gestación debido a que la remodelación de las arterias espirales uterinas comienza a finales del primer trimestre y se termina a las 18-20 semanas de gestación, por lo que pasado este tiempo la aspirina ya no tendría efecto (272). Además también ha sido demostrada la importancia de la dosis ya que hay una mayor reducción de la incidencia de la preeclampsia con dosis de al menos 100 mg de aspirina (95).

En la actualidad ya muchas sociedades profesionales recomiendan el uso de aspirina de forma profiláctica a dosis bajas (60 - 80 mg /día) en mujeres con alto riesgo de preeclampsia. Por ejemplo en el Reino Unido, el Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica (NICE) recomienda la administración de aspirina a grupos de alto riesgo en función de la existencia de factores de riesgo de preeclampsia (273). En los Estados Unidos, el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología recomienda su uso en mujeres con antecedentes de preeclampsia de

inicio precoz y parto pretérmino (menos de 34 0/7 semanas de gestación) o de preeclampsia en más de un embarazo previo (29). Sin embargo de la GPC de la Organización Mundial de la Salud sobre la prevención y el tratamiento de la preeclampsia y la eclampsia (274) plantea que se debe comenzar la administración de AAS en dosis bajas (75 mg) en las mujeres que tienen un riesgo alto de desarrollarla considerando de alto riesgo a aquellas mujeres que presentan uno o más de las siguientes condiciones: preeclampsia previa, diabetes, hipertensión crónica, nefropatía, enfermedad autoinmunitaria y embarazos múltiples.

La realidad es que la identificación de mujeres que desarrollarán PE a través de los factores de riesgo tiene una capacidad de detección pobre y muestra una gran heterogeneidad en la elección de los factores de riesgo para desarrollar preeclampsia. Hay algunos factores de riesgo conocidos como la nuliparidad, la historia anterior o antecedentes familiares de preeclampsia, edad materna avanzada, embarazo múltiple o condiciones médicas (diabetes mellitus, hipertensión, obesidad...) que aunque son importantes, no nos permiten predecir con seguridad el desarrollo de preeclampsia. Por este motivo el enfoque más en boga en la actualidad se basa en el cribado combinado mediante el cálculo del riesgo a priori mediante factores maternos con factores biofísicos y bioquímicos determinados a las 11 a 13 semanas de gestación. Un amplio estudio que evaluó una herramienta de cribado combinado sobre 60.000 embarazadas mostró una capacidad de detección de 76% de los casos de preeclampsia pretérmino y el 38% de todos los casos de Preeclampsia, para una tasa de falsos positivos del 10% (189). Sobre la base de esta herramienta se seleccionó a la población de riesgo aquí estudiada con el fin de comprobar si la identificación y tratamiento profiláctico con aspirina de mujeres de alto riesgo de preeclampsia a dosis de 150 mg al día iniciado entre la semana 11 a 14 semanas de gestación y tomado hasta las 36 semanas de gestación reduciría la incidencia de preeclampsia.

En nuestro caso la incidencia en el grupo que tomó aspirina fue del 4,68% mientras que en el grupo que tomó placebo fue del 16,3% en esta población de riesgo lo cual supuso una disminución del riesgo de padecer PE de más de tres veces en las pacientes tratadas con aspirina de forma estadísticamente significativa (OR: 0,244; IC95% 0,062-0,958, p=0,032).

Analizando la incidencia de parto prematuro, el tratamiento con aspirina supuso una disminución en la aparición de éste ya que en el grupo de mujeres tratadas con aspirina se encontró una frecuencia de parto prematuro del 6,77% mientras que en las mujeres tratadas con placebo fue del 20% (OR: 0,291; IC95%, 0,085-0,994, p=0,04), lo cual igualmente llevaba a una reducción de tres veces el riesgo tener un parto prematuro.

En conclusión, nuestros resultados muestran que la aspirina utilizada con fines profilácticos produce una reducción consistente en el riesgo de preeclampsia y de parto prematuro antes de la 37 semanas de gestación.

- **Análisis de la expresión de biomarcadores en el grupo tratado con aspirina vs placebo**

El mecanismo de acción de la aspirina se basa en una inhibición de la ciclooxigenasa (COX) de forma irreversible que, a su vez, inhibe la síntesis de prostaglandinas y de tromboxano. Dentro de la COX hay dos Isoenzimas : la COX1 y la COX2 inducible. La COX2 no suele expresarse en condiciones normales en la mayoría de las células, pero es inducida en procesos inflamatorios. En la prevención de la preeclampsia el mecanismo de acción de la aspirina no está completamente aclarado y se plantea la hipótesis de que dosis bajas de aspirina podrían inhibir la vasoconstricción y agregación plaquetaria mediada por el tromboxano A2 y prevenir así el fallo en la transformación fisiológica de las arterias espirales (275).

Con la intención de dilucidar algún aspecto sobre la acción de la aspirina a nivel biológico analizamos los biomarcadores en el grupo de gestantes tratadas con aspirina y con placebo en el segundo y tercer trimestres. En el segundo trimestre estableciendo el nivel de significación en 90% se observaron diferencias significativas en el valor de los triglicéridos ($p=0,013$), la glucosa ($p=0,085$) y la IL-6 ($p=0,088$) entre el grupo tratado con aspirina vs placebo. En el tercer trimestre tan sólo los niveles de sFlt-1 mostraron diferencias significativas ($p=0,046$), que fueron más altas en el grupo de pacientes que tomaron placebo.

Se ha investigado previamente sobre la capacidad de la aspirina para disminuir los niveles de triglicéridos. En un estudio de Van Diepen y cols. (276) demostraron que la aspirina disminuye la hipertrigliceridemia en ratones mediante la reducción de la secreción hepática VLDL-TG en lugar de acelerar la distribución de tejido VLDL-TG. La reducción de la síntesis de VLDL-TG estaría causada por una atenuación de la incorporación hepática de ácidos grasos a las VLDL-TG y por ello concluían que a la vista de sus hallazgos la aspirina podría ser un nuevo fármaco con potencial terapéutico en el tratamiento de la hipertrigliceridemia. En humanos los niveles de triglicéridos también se encontró que disminuían sus niveles en fumadores cuando se empleaban dosis altas de aspirina (650mg) (277) pero no hemos encontrado estudio alguno que estudiara la utilidad de la aspirina a dosis bajas para reducir los niveles de triglicéridos.

Respecto a los niveles de glucosa, se detectaron valores más bajos de glucosa en sangre en los sujetos que tomaban aspirina. La investigación de los efectos de la aspirina sobre los niveles

séricos de glucosa en la sangre se remonta a 1877 cuando los investigadores descubrieron que altas dosis de salicilato de sodio (aspirina) reducían la glucosuria en pacientes diabéticos pero, desde entonces, se han registrado resultados sumamente contradictorios (278). Estudios clínicos más recientes indican que los pacientes diabéticos tipo 2 mostraron una disminución de 40 mg / dl en los niveles de glucosa en ayunas y una reducción del 21% en los niveles de glucosa en sangre durante una prueba de tolerancia de comida mixta después de sólo 2 semanas de tratamiento con aspirina. Además, los roedores diabéticos tratados con aspirina a corto plazo (7 días) o a largo plazo (de 45 días a 5 meses) mostraron una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre y HbA1c. Pero, ¿Cómo reduce el tratamiento con aspirina la hiperglucemia? Se plantea la hipótesis de que la aspirina contribuye a la disminución de las tasas basales de la producción de glucosa hepática, aumenta de la sensibilidad a la insulina tisular, disminuye la depuración de insulina, y disminuye el estrés oxidativo en pacientes diabéticos (278).

Además nuestros datos reflejan que el uso de aspirina en las mujeres podría disminuir las concentraciones de IL-6, lo cual resulta lógico ya que como sabemos el uso de ácido acetilsalicílico o aspirina como inhibidor de la agregación plaquetaria puede atenuar la inflamación de bajo grado. El mecanismo principal tradicionalmente pensado como responsable del efecto de la aspirina es a través de la inhibición de la síntesis de PG y de la agregación plaquetaria mediada por COX-1. Los prostanoideos, los productos de la ciclooxigenasa (COX) derivados de los ácidos grasos insaturados C-20, y especialmente las prostaglandinas (PGs), regulan la producción de IL-6 en varios tejidos (279) pero, sin embargo, la inhibición de la COX no explica todo el espectro de actividades de este fármaco, y hay evidencia de que el ácido acetyl salicílico puede inhibir la síntesis de citoquinas, tanto in vitro como in vivo, a través de mecanismos dependientes e independientes de las prostaglandinas como la inhibición de los factores de transcripción de la translocación nuclear (279). Muchos estudios han evaluado la capacidad del AAS para disminuir la IL-6 en diferentes poblaciones. Una dosis media de aspirina (300 mg diarios) redujo la IL-6 sistémica en pacientes con angina estable y en personas con vitíligo activo pero en cambio no se encontró esta reducción en pacientes con hipercolesterolemia. Tampoco el tratamiento con AAS en dosis bajas (75 mg diarios) en un gran estudio transversal de hombres ancianos no diabéticos se asoció con una reducción en la IL-6 sérica ni de PCR. Por el contrario el efecto del AAS se ha encontrado que es más pronunciado en individuos con mayor IMC, lo que sugiere un posible papel protector anti-inflamatorio en sujetos obesos, tal vez debido al control de la síntesis de IL-6 derivada del propio tejido adiposo (279).

Así mismo, se encontraron niveles más altos de sFlt-1 en las mujeres tratadas con placebo que en las tratadas con aspirina en el tercer trimestre. La importancia de los niveles de sFlt-1 en la preeclampsia es clave, resultado de su papel en la regulación angiogénesis placentaria. El incremento excesivo de los niveles de sFlt-1 reduce la perfusión placentaria y de forma secundaria se produce un aumento del estrés oxidativo, inflamación y apoptosis. A la vista de nuestros resultados se podría pensar que si la elevación de sFlt-1 puede contribuir a las manifestaciones de preeclampsia, entonces la aspirina puede ejercer su beneficio al menos en parte a través de la inhibición de la expresión de sFlt-1. La hipótesis de que la aspirina puede inhibir la producción de sFlt-1 ya ha sido estudiada previamente. En un estudio reciente, se exploró el efecto de la aspirina y COX-1 en la producción de sFlt-1 por parte de citotrofoblastos primarios cultivados bajo hipoxia y quedó demostrado que la aspirina puede disminuir la producción de sFlt-1 con un efecto dosis dependiente a través de una inhibición exclusiva sobre la COX-1 (275). Hay que tener en cuenta que puede haber una serie de diferencias en los efectos de la aspirina in vivo e in vitro consecuencia de la administración oral en comparación con los cultivos celulares. Algunas de las diferencias se deben a la desacetilación de la aspirina que tiene lugar en el hígado in vivo, el efecto de la unión a proteínas plasmáticas y la eliminación renal de la aspirina que no puede ser imitado en los cultivos celulares. Otras diferencias provienen de la duración de la inhibición de la ciclooxigenasa, que puede durar varios días en las plaquetas pero sólo unas pocas horas en las células endoteliales debido a la resíntesis de la ciclooxigenasa por parte de las plaquetas. Por ello los autores del estudio dudaban entonces si el efecto de la aspirina que encontraron in vitro se podría encontrar con las dosis actualmente utilizadas para la prevención de la preeclampsia in vivo (275). Nuestro estudio sí detectó una pequeña diferencia pero significativa en la expresión de este biomarcador en suero lo cual ampliaría nuestra comprensión sobre los mecanismos que regulan la expresión de sFlt-1 y daría una explicación plausible del efecto de la aspirina para prevenir la preeclampsia. Aun así se necesitan más estudios para determinar si la modulación de sFlt-1 en pacientes tendrá un impacto definido en la incidencia o gravedad de la preeclampsia.

6. CONCLUSIONES

Los estudios realizados en la presente Tesis Doctoral nos han llevado a las siguientes conclusiones:

- ✓ Se ha desarrollado una estrategia de cribado precoz de la PE sobre gestantes de alto riesgo *a priori* mediante la selección de una combinación marcadores bioquímicos (interleukina-6 y Lipoproteína a) que, aplicados en combinación al final del primer trimestre, consiguieron detectar al 100% de los casos de PE pretérmino (parto < 37 semanas de gestación) con una especificidad del 83,3% y al 91,6% a todos los casos de PE con una especificidad del 97,2%.
- ✓ La búsqueda de un modelo de predicción del riesgo en el segundo y tercer trimestres de gestación nos llevó a un modelo que empleaba AST como marcador bioquímico y el IMC como variable materna, que mostró una eficacia moderada en el tercer trimestre pero pobre en el segundo trimestre de gestación.
- ✓ Se observaron diferencias significativas en el grupo tratado con aspirina con respecto al tratado con placebo en las concentraciones séricas de triglicéridos, IL-6 y glucosa en el segundo trimestre y de sFlt-1 en el tercer trimestre de gestación, que podrían explicar parte del mecanismo de acción de la aspirina en la prevención de la preeclampsia.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez Sarabia E, Gómez Díaz J MG V. Preeclampsia severa, eclampsia, síndrome de HELLP, comportamiento clínico. *Rev Fac Med UNAM*. 2005;48.
2. LC. C. History and epidemiology of preeclampsia-eclampsia. *Clin Obs Gynecol*. 1984;27(4):801–20.
3. Ballantyne JW. A Plea for a Pro-Maternity Hospital. *Br Med J*. 1901;1(2101):813–4.
4. Ghulmiyyah L, Sibai B. Maternal Mortality From Preeclampsia/Eclampsia. *Semin Perinatol* [Internet]. 2012 Feb;36(1):56–9.
5. WHO. Evolución de la mortalidad materna: 1990-2015. WHO. 2015.
6. WHO Maternal mortality in 1995: Estimates developed by WHO, UNICEF and UNFPA: WHO Geneva. 2004;
7. Patton G.C., Coffey C., Sawyer S.M., Viner R.M., Haller D.M., Bose K., Vos T. FJ and MCD. Global patterns of mortality in young 115 people: a systematic analysis of population health data. *Lancet*. 2009;374:881–92.
8. Conde-Agudelo A. VJ and LM. World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2004;104:1367–91.
9. Maynard S.E., Min J.-Y., Merchan J., Lim K.-H., Li J., Mondal S., Libermann T.A., Morgan J.P. SFW and SI. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The J Clin Investig*. 2003;111:649–58.
10. Wang A. RS and KSA. Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis. *Physiology*. 2009;24:147–58.
11. Lam C. LK-H and KSA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension*. 2005;46:1077–85.
12. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF et al. Circulating angiogenic factors and the risk of-preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004;350:672–83.
13. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble Endoglin and Other Circulating Antiangiogenic Factors in Preeclampsia. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 Sep 7;355(10):992–1005
14. Tiwari A.K., Mahdi A.A., Zahra F., Chandyan S. SVK and NMP. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in pregnant anemic women. *Indian J Clin Biochem*. 2010;25:411–8.
15. Mustafa R., Ahmed S. GA and VR. A comprehensive review of hypertension in pregnancy. *Journal of pregnancy*. *J Pregnancy*. 2012;
16. Souza JP, Gülmezoglu AM, Vogel J et al. Moving beyond essential interventions for

- reduction of maternal mortality (the WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health): a cross-sectional study. *Lancet* 2013. 381:1747–55.
17. Tranquilli AL, Dekker G, Magee L, Roberts J, Sibai BM, Steyn W, et al. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: A revised statement from the ISSHP. *Pregnancy Hypertens.* 2014;4(2):97–104.
 18. Rodr O, Gracia PV. Hipertensión arterial crónica y preeclampsia sobreagregada. 2013. 44-46 p.
 19. Lindheimer, M. D., Roberts, J. M., Cunningham, G. C. & Chesley L in C. Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy. 2014. 484 p.
 20. Roberts JM, Druzin M, August PA, Gaiser RR, Bakris G, Granger JP, et al. ACOG Guidelines: Hypertension in pregnancy. American College of Obstetricians and Gynecologists. 2012. 1-100 p.
 21. R. C. Los estados hipertensivos del embarazo en nuestro país. *Progr Obs Ginecol.* 1987;30:73–8.
 22. Mora P, Gobernado JA, Pérez-Milán F, Cortés S. Estados hipertensivos del embarazo: resultados perinatales. *Clin Invest Ginecol Obstet [Internet].* 2010 Mar;37(2):56–62.
 23. Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J AH. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestational hypertension, United States, 1987-2004. *Am J Hypertens.* 2008;21:521–6.
 24. Bodnar LM, Ness RB, Markovic N RJ. The risk of preeclampsia rises with increasing prepregnancy body mass index. *Ann Epidemiol.* 2005;15:475–82.
 25. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gulmezoglu AM VLP. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006;367(9516):1066–74.
 26. Martin AM, Bindra R, Curcio P, Cicero S NK. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound. Obs Gynecol.* 2001;18:583–6.
 27. Sibai B, Dekker G KM. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005;365:785–99.
 28. Menzies J, Magee LA, Macnab YC, Ansermino JM, Li J DM et al. Current CHS and NHBPEP criteria for severe preeclampsia do not uniformly predict adverse maternal or perinatal outcomes. *Hypertens Pregnancy.* 2007;26:447–62.
 29. ACOG. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol [Internet].* 2013;122(5):1122–31.
 30. Sibai BM BJ. Expectant management of severe pre- eclampsia remote from term:

- patient selection, treatment, and delivery indications. *Am J Obs Gynecol*. 2007;196(514):e1–9.
31. BM. S. Evaluation and management of severe preeclampsia before 34 weeks' gestation. Publications Committee, Society for Maternal-Fetal Medicine. *Am J Obs Gynecol*. 2011;205:191–8.
 32. Auger N, Fraser WD, Paradis G, Healy-Profítos J, Hsieh A, Rhéaume M-A. Preeclampsia and Long-term Risk of Maternal Retinal Disorders. *Obstet Gynecol [Internet]*. 2017;129(1):42–9.
 33. Trogstad L, Magnus P, Stoltenberg C. Pre-eclampsia: Risk factors and causal models. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol [Internet]*. 2011 Jun;25(3):329–42.
 34. Iserte PP. “Patrón de decidualización en mujeres con preeclampsia mediante la aplicación de métodos de transcriptómica y proteómica”. 2014.
 35. Raymond D PE. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia. *Obs Gynecol Surv*. 2011;66(8):497–506.
 36. B. H. Placental origins of preeclampsia. Challenging the current hypothesis. *Hypertension*. 2008;51:970–5.
 37. Valensise H, Vasapollo B, Gagliardi G NG. Early and late preeclampsia: two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. *Hypertension*. 2008;52(5):873–80.
 38. Koopmans CM, Bijlenga D, Groen H, Vijgen SM, Aarnoudse JG BD et al. Induction of labour versus expectant monitoring for gestational hypertension or mild pre-eclampsia after 36 weeks' gestation (HYPITAT): a multicentre, open-label randomised controlled trial. *Lancet*. 2009;374:979–88.
 39. von DP, Magee LA RJ. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2003;22:143–8.
 40. Omar R, Paredes L. Preeclampsia de inicio temprano y tardío: una antigua enfermedad, nuevas ideas. *Rev Peru Ginecol y Obstet*. 2014;60(4):351–61.
 41. Magee L a, Pels a, Helewa M, Rey E, von Dadelszen P, Hypertension Guideline C, et al. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy: executive summary. *J Obs Gynaecol Can [Internet]*. 2014;36(5):416–38.
 42. SEGO P. Estados Hipertensivos del Embarazo. *Prog Obs Ginecol*. 2007;50(7):446–55.
 43. NICE. Hypertension in pregnancy: diagnosis and management. 2011;(January).
 44. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial

- dysfunction. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)* [Internet]. 2001 Sep;38(3 Pt 2):718–22.
45. Roberts JM, Gammill HS. Preeclampsia: recent insights. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)* [Internet]. 2005 Dec;46(6):1243–9.
46. Maynard SE, Karumanchi SA. Angiogenic factors and preeclampsia. *Semin Nephrol* [Internet]. 2011 Jan;31(1):33–46.
47. Aplin JD. Implantation, trophoblast differentiation and haemochorial placentation: mechanistic evidence in vivo and in vitro. *J Cell Sci* [Internet]. 1991 Aug;99 (Pt 4):681–92.
48. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstet Gynecol Annu* [Internet]. 1972;1:177–91.
49. Burton GJ, Yung H-W, Cindrova-Davies T, Charnock-Jones DS. Placental Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress in the Pathophysiology of Unexplained Intrauterine Growth Restriction and Early Onset Preeclampsia. *Placenta* [Internet]. 2009 Mar;30:43–8.
50. Kadyrov M, Kingdom JC HB. Divergent trophoblast invasion and apoptosis in placental bed spiral arteries from pregnancies complicated by maternal anemia and early-onset preeclampsia/intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194:557–63.
51. Formigli L, Papucci L, Tani A, Schiavone N, Tempestini A OG, Capaccioli S OS. Aponecrosis: Morphological and biochemical exploration of a syncretic process of cell death sharing apoptosis and necrosis. *J Cell Physiol*. 2000;182:41–9.
52. Goswami D, Tannetta DS, Magee LA, Fuchisawa A, Redman CW S, IL von DP. Excess syncytiotrophoblast microparticle shedding is a feature of early-onset pre-eclampsia, but not normotensive intrauterine growth restriction. *Placenta*. 2006;27:56–61.
53. Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J, Bao Y-P, Skepper JN, Burton GJ. Onset of Maternal Arterial Blood Flow and Placental Oxidative Stress. *Am J Pathol* [Internet]. 2000 Dec;157(6):2111–22.
54. Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update* [Internet]. 9(4):347–57.
55. Miyazaki S, Tsuda H, Sakai M, Hori S, Sasaki Y, Futatani T, et al. Predominance of Th2-promoting dendritic cells in early human pregnancy decidua. *J Leukoc Biol* [Internet]. 2003 Oct;74(4):514–22.
56. Lurain JR. Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease, and management of hydatidiform mole. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2010 Dec;203(6):531–9.

-
57. LaMarca B, Cornelius D, Wallace K. Elucidating immune mechanisms causing hypertension during pregnancy. *Physiology (Bethesda)* [Internet]. 2013 Jul;28(4):225–33.
 58. Redman CWG, Sargent IL. Immunology of Pre-Eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2010;63(6):534–43.
 59. Arriaga-Pizano L, Jimenez-Zamudio L, Vadillo-Ortega F, Martinez-Flores A, Herrerias-Canedo T, Hernandez-Guerrero C. The predominant Th1 cytokine profile in maternal plasma of preeclamptic women is not reflected in the choriodecidual and fetal compartments. *J Soc Gynecol Investig* [Internet]. 2005 Jul;12(5):335–42.
 60. Kharfi A, Giguère Y, Sapin V, Massé J, Dastugue B, Forest J-C. Trophoblastic remodeling in normal and preeclamptic pregnancies: implication of cytokines. *Clin Biochem* [Internet]. 2003 Jul;36(5):323–31.
 61. Yang X, Guo L, Li H, Chen X, Tong X. Analysis of the original causes of placental oxidative stress in normal pregnancy and pre-eclampsia: a hypothesis. *J Matern Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2012 Jul;25(7):884–8.
 62. Roberts JM. Pathophysiology of ischemic placental disease. *Semin Perinatol* [Internet]. 2014 Apr;38(3):139–45
 63. Jain A. Endothelin-1: a key pathological factor in pre-eclampsia? *Reprod Biomed Online* [Internet]. 2012 Nov;25(5):443–9.
 64. Sharma JB, Sharma A, Bahadur A, Vimala N, Satyam A, Mittal S. Oxidative stress markers and antioxidant levels in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* [Internet]. 2006 Jul;94(1):23–7.
 65. Gilbert JS, Ryan MJ, LaMarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* [Internet]. 2008 Feb;294(2):H541–50.
 66. Savvidou MD, Hingorani AD, Tsikas D, Frölich JC, Vallance P, Nicolaides KH. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet (London, England)* [Internet]. 2003 May 3;361(9368):1511–7.
 67. Chesley LC, Annitto JE, Cosgrove RA. The familial factor in toxemia of pregnancy. *Obs Gynecol*. 1968;32(3):303–11.
 68. Santillan M. Identification of a rational , physiologically based early biomarker and pathogenic pathway For preeclampsia. 2016;
 69. Arngrímsson R, Sigurðardóttir S, Frigge ML, Bjarnadóttir RI, Jónsson T, Stefánsson H, et

- al. A genome-wide scan reveals a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia on chromosome 2p13. *Hum Mol Genet* [Internet]. 1999 Sep;8(9):1799–805.
70. E. A. P. Steegers, P. Von Dadelszen, J. J. Duvekot and R, Pijnenborg. “Pre-eclampsia,.” *The Lancet*,. 2010;376(9741):631–44,.
71. Fernández IÁ. Nuevos marcadores en el diagnóstico y pronóstico de la preeclampsia precoz y tardía. Universidad de Oviedo; 2015.
72. Lain KY, Roberts JM. Contemporary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia. *JAMA* [Internet]. 2002 Jun 26;287(24):3183–6. 8
73. Bhowmik DK. Alteration of Liver Function in Preeclampsia and Eclampsia. *chattagram Maa-O-SHISHU Hosp Med Coll J*. 2013;12(3):9–10.
74. George J, Charania R. Evaluation of Patients with Microangiopathic Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost* [Internet]. 2013 Feb 6;39(02):153–60.
75. Zeeman GG. Neurologic Complications of Pre-eclampsia. *Semin Perinatol* [Internet]. Elsevier Inc.; 2009;33(3):166–72.
76. Tuffnell DJ, Jankowicz D, Lindow SW, Lyons G, Mason GC, Russell IF, et al. Outcomes of severe pre-eclampsia/eclampsia in Yorkshire 1999/2003. *BJOG* [Internet]. 2005 Jul;112(7):875–80.
77. Ganzevoort W SB. Temporising versus interventionist management (preterm and at term). *Best Pr Res Clin Ob- stet Gynaecol*. 2011;25:463–76.
78. Kaaja R, Kinnunen T LR. Regional differences in the prevalence For, of pre-eclampsia in relation to the risk factors J., coronary artery disease in women in Finland. *Eur Hear*. 2005;26:44–50.
79. Dolberg Anderson U. New predictive and diagnostic biomarkers for preeclampsia. 2015.
80. Kessous R, Shoham-Vardi I, Pariente G, Sergienko R, Sheiner E. Long-term maternal atherosclerotic morbidity in women with pre-eclampsia. *Heart* [Internet]. 2015 Mar;101(6):442–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25564558>
81. MA. B. Pre-eclampsia: proteinuria in pre-eclampsia –does it matter any more? *Nat Rev Nephrol*. 2012;8(10):563–5.
82. Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Korzeniewski SJ, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 2: prediction, prevention and management. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2014 Jul 8;10(9):531–40.
83. Kagan KO, Anderson JM, Anwandter G, Neksasova K, Nicolaides KH. Screening for triploidy by the risk algorithms for trisomies 21, 18 and 13 at 11 weeks to 13 weeks and 6 days of gestation. *Prenat Diagn* [Internet]. 2008 Dec;28(13):1209–13.

84. Poon LC, Nicolaides KH. Early Prediction of Preeclampsia. *Obstet Gynecol Int* [Internet]. Hindawi Publishing Corporation; 2014;2014(Table 2):1–11.
85. Cuckle HS. Screening for pre-eclampsia--lessons from aneuploidy screening. *Placenta* [Internet]. 2011 Feb;32 Suppl:S42–8.
86. Akolekar R, Syngelaki A, Poon L, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. *Fetal Diagn Ther*. 2013;33(1):8–15.
87. Rolnik DL, Wright D, Poon LCY, Syngelaki A, Matallana CDEP, Akolekar R, et al. ASPRE trial : performance of screening for preterm. 2017;(August):16–20.
88. Townsend R, Brien PO, Khalil A. Current best practice in the management of hypertensive disorders in pregnancy. 2016;79–94.
89. Klein E, Schlembach D, Ramoni A, Langer E, Bahlmann F, Grill S, et al. Influence of the sFlt-1/PIGF ratio on clinical decision-making in women with suspected preeclampsia. *PLoS One*. 2016;11(5).
90. Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratinam S, Magee LA, De Groot CJM, Hofmeyr GJ. Preeclampsia. *Lancet*. 2016;387(10022):999–1011.
91. Bezerra S, Moura H, Lopes LM, Murthi P, Costa S. Prevention of Preeclampsia. 2012;2012.
92. Hofmeyr GJ, Duley L, Atallah A. Dietary calcium supplementation for prevention of pre-eclampsia and related problems: a systematic review and commentary. *BJOG* [Internet]. 2007 Aug;114(8):933–43.
93. K. C. Nicolaou TM. *Molecules That Changed the World*. 2008. 385 p.
94. Crandon AJ, Isherwood DM. Effect of aspirin on incidence of pre-eclampsia. *Lancet* [Internet]. 1979 Jun;313(8130):1356.
95. Singh M, Molina FS, Persico N, Jani JC, Plasencia W, Papaioannou G, et al. Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. 2017;613–22.
96. Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane database Syst Rev* [Internet]. 2007 Apr 18;(2):CD004659.
97. Lc P, Wright D, DI R, Syngelaki A, JI D, Tsokaki T, et al. Aspirin for Evidence-Based Preeclampsia Prevention trial : effect of aspirin in prevention of preterm preeclampsia in subgroups of women according to their characteristics and medical and obstetrical history . 2017;8–9.
98. Roberge S, Nicolaides K, Demers S, Hyett J, Chaillet N, Bujold E. The role of aspirin dose

- on the prevention of preeclampsia and fetal growth restriction: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;216(2):110–20.e6.
99. Caron N, Rivard G-E, Michon N, Morin F, Pilon D, Moutquin J-M, et al. Low-dose ASA response using the PFA-100 in women with high-risk pregnancy. *J Obstet Gynaecol Can* [Internet]. 2009 Nov;31(11):1022–7.
100. Wójtowicz A, Undas A, Huras H, Musiał J, Rytlewski K, Reroń A, et al. Aspirin resistance may be associated with adverse pregnancy outcomes. *Neuro Endocrinol Lett* [Internet]. 2011;32(3):334–9.
101. Tohgi H, Konno S, Tamura K, Kimura B, Kawano K. Effects of low-to-high doses of aspirin on platelet aggregability and metabolites of thromboxane A2 and prostacyclin. *Stroke* [Internet]. 1992 Oct 1;23(10):1400–3.
102. Nørgård B, Puhó E, Czeizel AE, Skriver M V., Sørensen HT. Aspirin use during early pregnancy and the risk of congenital abnormalities: A population-based case-control study. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2005 Mar;192(3):922–3.
103. Schisterman EF, Silver RM, Leshner LL, Faraggi D, Wactawski-Wende J, Townsend JM, et al. Preconception low-dose aspirin and pregnancy outcomes: Results from the EAGeR randomised trial. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;384(9937):29–36.
104. Mone F, Mulcahy C, McParland P, McAuliffe FM. Should we recommend universal aspirin for all pregnant women? *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2017 Feb;216(2):141.e1–141.e5.
105. Onalan R, Onalan G, Gunenc Z, Karabulut E. Combining 2nd-trimester maternal serum homocysteine levels and uterine artery doppler for prediction of preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Invest*. 2006;61(3):142–8.
106. Wu P, van den Berg C, Alfirevic Z, O'Brien S, Röthlisberger M, Baker P, et al. Early Pregnancy Biomarkers in Pre-Eclampsia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2015 Sep 23;16(9):23035–56.
107. Fox C, Khan K, Coomarasamy A. How to interpret randomised trials of test-treatment combinations: a critical evaluation of research on uterine Doppler test to predict, and aspirin to prevent, pre-eclampsia. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2010 Jun;117(7):801–8.
108. Sáez O N, Carvajal C J. Tamizaje y prevención de preeclampsia guiado por Doppler de arterias uterinas: revisión sistemática de la literatura. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2012;77(3):235–42.
109. Bacq Y, Zarka O, Bréchet JF, Mariotte N, Vol S, Tichet J, et al. Liver function tests in

- normal pregnancy: a prospective study of 103 pregnant women and 103 matched controls. *Hepatology* [Internet]. 1996 May;23(5):1030–4.
110. Testleri F, Arabistan S, Prospektif B. Liver Function Tests as Probable Markers of Preeclampsia - A Prospective Study Conducted in Riyadh Preeklampsi Muhtemel Belirteçleri. :1–4.
 111. Dacaj R, Izetbegovic S, Stojkanovic G, Drescha S. Elevated Liver Enzymes in Cases of Preeclampsia and Intrauterine Growth Restriction. *Med Arch* [Internet]. 2016;70(1):44.
 112. Deli? R, ?tefanovi? M. Optimal laboratory panel for predicting preeclampsia. *J Matern Neonatal Med* [Internet]. 2010 Jan 11;23(1):96–102.
 113. Tsoi SC, Zheng J, Xu F, Kay HH. Differential expression of lactate dehydrogenase isozymes (LDH) in human placenta with high expression of LDH-A(4) isozyme in the endothelial cells of pre-eclampsia villi. *Placenta* [Internet]. 2001 Apr;22(4):317–22.
 114. Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp Med* [Internet]. 1930 Sep 30;52(4):561–71.
 115. Wolf M, Kettyle E, Sandler L, Ecker JL, Roberts J, Thadhani R. Obesity and preeclampsia: the potential role of inflammation. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2001 Nov;98(5 Pt 1):757–62.
 116. Nanda K, Sadanand G, S MKC, Mahadevappa KL. C-Reactive protein as a predictive factor of preeclampsia. 2012;3(1):1307–10.
 117. Hage FG. C-reactive protein and hypertension. *J Hum Hypertens* [Internet]. Nature Publishing Group; 2013;28(7):410–5.
 118. Kashanian M, Aghbali F, Mahali N. Evaluation of the diagnostic value of the first-trimester maternal serum high-sensitivity C-reactive protein level for prediction of pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* [Internet]. 2013;39(12):1549–54.
 119. Lockwood CJ, Yen C. Preeclampsia-Related Inflammatory Cytokines Regulate Interleukin-6 Expression in Human Decidual Cells. 2008;172(6):1571–9.
 120. Prins JR, Gomez-Lopez N, Robertson SA. Interleukin-6 in pregnancy and gestational disorders. *J Reprod Immunol* [Internet]. 2012 Sep;95(1-2):1–14.
 121. Anwer MY, Karkor TA, El-Tawab SS, Deghady AA, El Tayeb IM. Serum IL 6 and umbilical artery Doppler indices in pre-eclamptic patients. *Alexandria J Med* [Internet]. Alexandria University Faculty of Medicine; 2016;53(1):35–40.
 122. Chen Q, Zhao M, Guo F, Yin YX, Xiao JP, Stone PR, et al. The reduction of circulating levels of IL-6 in pregnant women with preeclampsia by magnesium sulphate and nifedipine: In vitro evidence for potential mechanisms. *Placenta* [Internet]. Elsevier Ltd;

- 2015;36(6):661–6.
123. Takacs P, Green KL, Nikaeo A, Kauma SW. Increased vascular endothelial cell production of interleukin-6 in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2003 Mar;188(3):740–4.
 124. Udenze I, Amadi C, Awolola N, Makwe CC. The role of cytokines as inflammatory mediators in preeclampsia. *Pan Afr Med J* [Internet]. 2015;20:219.
 125. Ozler A1 Turgut A, Sak ME, Evsen MS, Soydinc HE, Evliyaoglu O GT. Serum levels of neopterin, tumor necrosis factor-alpha and Interleukin-6 in preeclampsia: relationship with disease severity. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012;16(12):1707–12.
 126. Prakash S, Sharma N. Creatinine clearance as a marker for diagnosing the severity of preeclampsia. *Int J Pharm Sci Res* [Internet]. 2013;4(4):1488–94.
 127. García IH. Cribado combinado del primer trimestre para la predicción de la preeclampsia en gestantes con factores de alto riesgo [Internet]. 2011.
 128. Thilaganathan, B., Ralph, E., Papageorghiou, A.T., Melchiorre, K., and Sheldon J. Raised maternal serum cystatin C: an early pregnancy marker for preeclampsia. *Reprod Sci*. 16:788–93.
 129. Kristensen K, Larsson I, Hansson SR. Increased cystatin C expression in the pre-eclamptic placenta. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 2007 Jan 31;13(3):189–95
 130. Varanou A, Withington SL, Lakasing L, Williamson C, Burton GJ, Hemberger M. The importance of cysteine cathepsin proteases for placental development. *J Mol Med* [Internet]. 2006 Apr 27;84(4):305–17.
 131. Thilaganathan B, Wormald B, Zanardini C, Sheldon J, Ralph E, Papageorghiou AT. Early-Pregnancy Multiple Serum Markers and Second-Trimester Uterine Artery Doppler in Predicting Preeclampsia. *Obstet Gynecol* [Internet]. 2010 Jun;115(6):1233–8.
 132. Elagwany AS, Eldayem TMA, Karkour TAZ, ELdeghedy AAE, Morsy HR. The application of serum cystatin C in estimating the renal function in women with severe preeclamptic toxemia. *Progresos Obstet y Ginecol*. 2015;1–11.
 133. Yang X, Wang H, Wang Z, Dong M. Alteration and significance of serum cardiac troponin I and cystatin C in preeclampsia. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2006 Dec;374(1-2):168–9.
 134. Müller-Deile J. Preeclampsia from a renal point of view: Insides into disease models, biomarkers and therapy. *World J Nephrol* [Internet]. 2014;3(4):169.
 135. Perazzi B, Angerosa M. Creatinina en sangre : calidad analítica e influencia en la estimación del Índice de Filtrado Glomerular. *Acta bioquímica clínica Latinoam* [Internet]. 2011;45(2):265–73.

136. Alper A, Yi Y, Rahman M, Webber L, Magee L, von Dadelszen P, et al. Performance of Estimated Glomerular Filtration Rate Prediction Equations in Preeclamptic Patients. *Am J Perinatol* [Internet]. 2011 Jun 18;28(06):425–30.
137. Gorostidi M, Santamaría R, Alcázar R, Fernández-fresnedo G, Galcerán JM, Goicoechea M, et al. Documento de la Sociedad Española de Nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica. 2014;
138. Dharnidharka VR, Kwon C SG. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis. *Am J Kidney Dis*. 2002;40(221.):6–18.
139. García, María Fernández EC. Cistatina C en la evaluación de la función renal María. *Rev del Lab Clínico*. 2011;4(1).
140. Moodley J1, Gangaram R, Khanyile R OP. Serum cystatin C for assessment of glomerular filtration rate in hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Pregnancy*. 2004;23(3):309–17.
141. LAIN KY, CATALANO PM. Metabolic Changes in Pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* [Internet]. 2007 Dec;50(4):938–48.
142. Wiznitzer A, Mayer A, Novack V, Sheiner E, Gilutz H, Malhotra A, et al. Association of lipid levels during gestation with preeclampsia and gestational diabetes mellitus: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2009 Nov;201(5):482.e1–482.e8.
143. Spracklen CN, Saftlas AF, Triche EW, Bjornes A, Keating B, Saxena R, et al. Genetic predisposition to dyslipidemia and risk of preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2015;28(7):915–23.
144. Shen H, Liu X, Chen Y, HE B, Cheng W. Associations of lipid levels during gestation with hypertensive disorders of pregnancy and gestational diabetes mellitus: a prospective longitudinal cohort study. *BMJ Open* [Internet]. 2016;6(12):e013509.
145. Spracklen CN, Smith CJ, Saftlas AF, Robinson JG, Ryckman KK. Maternal hyperlipidemia and the risk of preeclampsia: A meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2014;180(4):346–58.
146. McCormick SPA. Lipoprotein(a): Biology and Clinical Importance. *Clin Biochem Rev* [Internet]. 2004;25(1):69–80.
147. Mukherjee M. Dyslipidemia in Pregnancy. *Am Coll Cardiol* [Internet]. 2014;1–7.
148. Demir B, Demir S, Atamer Y, Guven S, Atamer A, Kocyigit Y, Hekimoglu A TG. Serum levels of lipids, lipoproteins and paraoxonase activity in pre-eclampsia. *J Int Med Res*. 2011;39(1427):31.
149. Manten GT, van der Hoek YY, Marko SJ, Voorbij HA, Hameeteman TM, Visser GH FA.

- The role of lipoprotein (a) in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Med Hypotheses*. 2005;64(162):9.
150. Fanshawe AE, Ibrahim M. The current status of lipoprotein (a) in pregnancy: A literature review. *J Cardiol [Internet]*. Japanese College of Cardiology; 2013;61(2):99–106.
151. Bukan N, Kandemir O, Nas T, Gulbahar O, Unal A CB. Maternal cardiac risks in pre-eclamptic patients. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;25(912):4.
152. Gerhardt A, Howe N, Krüssel JS, Scharf RE, Zotz RB. Elevated lipoprotein(a) levels and homozygous human platelet antigen 1b (HPA-1b) genotype are risk factors for intrauterine growth restriction (IUGR). *J Thromb Thrombolysis [Internet]*. 2014 Feb 27;37(2):107–17.
153. Nanda S. Maternal Serum Leptin at 11-13 Weeks Gestation in Normal and Pathological Pregnancies. *J Metab Syndr [Internet]*. 2012;01(04).
154. Taylor BD, Ness RB, Olsen J, Hougaard DM, Skogstrand K, Roberts JM, et al. Serum leptin measured in early pregnancy is higher in women with preeclampsia compared with normotensive pregnant women. *Hypertension [Internet]*. 2015 Mar [cited 2016 Feb 1];65(3):594–9.
155. Masuyama H, Segawa T, Sumida Y, Masumoto A, Inoue S, Akahori Y, et al. Different profiles of circulating angiogenic factors and adipocytokines between early- and late-onset pre-eclampsia. *BJOG [Internet]*. 2010 Feb;117(3):314–20.
156. Mise H, Sagawa N, Matsumoto T, Yura S, Nanno H, Itoh H, et al. Augmented placental production of leptin in preeclampsia: possible involvement of placental hypoxia. *J Clin Endocrinol Metab [Internet]*. 1998 Sep;83(9):3225–9.
157. Sucak A, Kanat-Pektas M, Gungor T, Mollamahmutoglu L. Leptin levels and antihypertensive treatment in preeclampsia. *Singapore Med J*. 2010;51(1):39–43.
158. Adali E, Yildizhan R, Kulusari A, Kurdoglu M, Bugdayci G, Sahin HG, et al. Increased visfatin and leptin in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med [Internet]*. 2009 Oct;22(10):873–9.
159. Salomon LJ, Benattar C, Audibert F, Fernandez H, Duyme M, Taieb J, et al. Severe preeclampsia is associated with high inhibin A levels and normal leptin levels at 7 to 13 weeks into pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189(6):1517–22.
160. Clausen T, Djurovic S, Reseland JE, Berg K, Drevon CA, Henriksen T. Altered plasma concentrations of leptin, transforming growth factor-beta(1) and plasminogen activator inhibitor type 2 at 18 weeks of gestation in women destined to develop pre-eclampsia. Circulating markers of disturbed placentation? *Placenta [Internet]*. 2002

- May;23(5):380–5.
161. Bogavac M, Jakovljevi A, Staji Z, Nikoli A. Preeclampsia and level of oxidative stress in the first trimester of pregnancy Preeklampsija i nivo oksidativnog stresa u prvom trimestru trudnoće. *Mil Med Pharm J Serbia*. 2017;74(7):633–8.
 162. Čebović TN, Marić D, Nikolić A, Novakov-Mikić A. Antioxidant Status in Normal Pregnancy and Preeclampsia upon Multivitamin-Mineral Supplementation in the Region of Vojvodina. *Int J Biosci Biochem Bioinforma [Internet]*. 2013;3(2):138–44.
 163. Cohen JM, Beddaoui M, Kramer MS, Platt RW, Basso O, Kahn SR. Maternal antioxidant levels in pregnancy and risk of preeclampsia and small for gestational age birth: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2015;10(8).
 164. Gupta S, Aziz N, Sekhon L, Agarwal R, Mansour G, Li J, et al. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv [Internet]*. 2009;64(11):750–9.
 165. Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology. *Nat Rev Nephrol [Internet]*. Nature Publishing Group; 2014;10(8):466–80.
 166. D'Souza V, Rani A, Patil V, Pisal H, Randhir K, Mehendale S, et al. Increased oxidative stress from early pregnancy in women who develop preeclampsia. *Clin Exp Hypertens [Internet]*. 2016;38(2):225–32.
 167. Fenzl V, Flegar-Meštrić Z, Perkov S, Andrišić L, Tatzber F, Žarković N, et al. Trace elements and oxidative stress in hypertensive disorders of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet [Internet]*. 2013 Jan 10;287(1):19–24.
 168. N S, L S. Serum Uric Acid and Homocysteine as Predictors of Pre-eclampsia. *J Diabetes Metab [Internet]*. 2013;04(04). I
 169. Miglani S, Nautiyal R, Prakash A. Hyperhomocysteinemia in pre-eclampsia : is routine screening rational ? 2017;6(4):1271–4.
 170. Mignini LE, Latthe PM, Villar J, Kilby MD, Carroli G, Khan KS. Mapping the Theories of Preeclampsia: The Role of Homocysteine. *Obstet Gynecol [Internet]*. 2005;105(2):411–25.
 171. Mao D, Che J, Li K, Han S, Yue Q, Zhu L, et al. Association of homocysteine, asymmetric dimethylarginine, and nitric oxide with preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet [Internet]*. 2010 Oct 6;282(4):371–5.
 172. Guven MA, Coskun A, Ertas IE, Aral M, Zenc?rc? B, Oksuz H. Association of Maternal Serum CRP, IL-6, TNF-a, Homocysteine, Folic Acid and Vitamin B12 Levels with the Severity of Preeclampsia and Fetal Birth Weight. *Hypertens Pregnancy [Internet]*. 2009

- Jan 7;28(2):190–200.
173. Bergen NE, Jaddoe VW V, Timmermans S, Hofman A, Lindemans J, Russcher H, et al. Homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcomes: the Generation R Study. *BJOG [Internet]*. 2012 May;119(6):739–51.
 174. Kaymaz C, Demir A, Bige O, Cagliyan E, Cimrin D, Demir N. Analysis of perinatal outcome by combination of first trimester maternal plasma homocysteine with uterine artery Doppler velocimetry. *Prenat Diagn [Internet]*. 2011 Dec;31(13):1246–50.
 175. López-Alarcón M, Montalvo-Velarde I, Vital-Reyes VS, Hinojosa-Cruz JC, Leaños-Miranda A, Martínez-Basila A. Serial determinations of asymmetric dimethylarginine and homocysteine during pregnancy to predict pre-eclampsia: A longitudinal study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2015;122(12):1586–92.
 176. Slemons JM BL. The uric acid content of maternal and fetal blood. *J Biol Chem*. 1917;32:63–9.
 177. Reyna-Villasmil E, Mejia-Montilla J, Reyna-Villasmil N, Torres-Cepeda D, Peña-Paredes E, Colmenares-Vega M, et al. Concentraciones de ácido úrico en pacientes con preeclampsia y eclampsia. *Clin Invest Ginecol Obstet*. 2008;35(5):160–5.
 178. Cnossen JS, de Ruyter-Hanhijärvi H, van der Post JAM, Mol BWJ, Khan KS, ter Riet G. Accuracy of serum uric acid determination in predicting pre-eclampsia: A systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand [Internet]*. 2006;85(5):519–25.
 179. Powers RW, Bodnar LM, Ness RB, Cooper KM, Gallaher MJ, Frank MP, et al. Uric acid concentrations in early pregnancy among preeclamptic women with gestational hyperuricemia at delivery. *Am J Obstet Gynecol [Internet]*. 2006 Jan;194(1):160.
 180. Kang D-H, Finch J, Nakagawa T, Karumanchi SA, Kanellis J, Granger J, et al. Uric acid, endothelial dysfunction and pre-eclampsia: searching for a pathogenetic link. *J Hypertens [Internet]*. 2004 Feb;22(2):229–35.
 181. Dekker GA, Sibai BM. Early detection of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol [Internet]*. 1991 Jul;165(1):160–72.
 182. Conde-Agudelo A, Lede R, Belizán J. Evaluation of methods used in the prediction of hypertensive disorders of pregnancy. *Obstet Gynecol Surv [Internet]*. 1994 Mar;49(3):210–22.
 183. WF. O. Predicting preeclampsia. *Obs Gynecol*. 1990;75(3):445–52.
 184. Visser W WH. Prediction and prevention of pregnancy-induced hypertensive disorders. *Baillieres Best Pr Res Clin Obs Gynaecol*. 1999;13(1):131–56.

185. De Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp Mol Med* [Internet]. 2012;44(1):1–9.
186. Krauss T, Pauer HU AH. Prospective analysis of placenta growth factor (PIGF) concentrations in the plasma of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. *Hypertens pregnancy Off J Int Soc Study Hypertens Pregnancy*. 2004;23(1):101–11.
187. Saffer C, Olson G, Boggess KA, Beyerlein R, Eubank C, Sibai BM. Determination of placental growth factor (PIGF) levels in healthy pregnant women without signs or symptoms of preeclampsia. *Pregnancy Hypertens* [Internet]. International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy; 2013;3(2):124–32.
188. Poon LCY, Akolekar R, Lachmann R, Beta J, Nicolaides KH. Hypertensive disorders in pregnancy: screening by biophysical and biochemical markers at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* [Internet]. 2010 Jun;35(6):662–70.
189. Akolekar R, Syngelaki A, Poon L, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in early screening for preeclampsia by biophysical and biochemical markers. *Fetal Diagn Ther* [Internet]. 2013;33(1):8–15.
190. Crovetto F, Figueras F, Triunfo S, Crispi F, Rodriguez-Sureda V, Peguero A, et al. Added value of angiogenic factors for the prediction of early and late preeclampsia in the first trimester of pregnancy. *Fetal Diagn Ther*. 2014;35(4):258–66.
191. Akolekar R, de Cruz J, Foidart J-M, Munaut C, Nicolaides KH. Maternal plasma soluble fms-like tyrosine kinase-1 and free vascular endothelial growth factor at 11 to 13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn* [Internet]. 2010 Mar;30(3):191–7.
192. Manuscript A. Second trimester anti-angiogenic proteins and preeclampsia. Catherine L Haggerty, PhD, MPH, Michael E Seifert, MD, Gong Tang, PhD, Jorn Olsen, MD, PhD, Debra C Bass, MS, S Ananth Karumanchi, MD, Roberta B Ness, MD, MPH. 2008;23(1):1–7.
193. Hertig A, Liere P. New markers in preeclampsia. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2010 Nov 11;411(21-22):1591–5.
194. Levine R.J., Maynard S.E., Qian C., Lim K.-H., England L.J., Yu K.F., Schisterman E.F., Thadhani R. SBP and EFH. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004;350:672–83.
195. Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, et al. Implementation of the sFlt-1/PIGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy: Implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol*.

- 2015;45(3):241–6.
196. Kuc S, Wortelboer EJ, Rijn BB Van, Franx A. Evaluation of 7 Serum Biomarkers and Uterine Artery Doppler Ultrasound for First-Trimester Prediction of Preeclampsia: A Systematic Review. *Obstet Gynecol Surv.* 2011;66(4):225–39.
197. Press A. *Advances in Clinical Chemistry.* 2013. 194-197 p.
198. Gc S, Ej S, Ja C, Ad C, Jm C. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction , premature birth , preeclampsia , and stillbirth . 2017;87(4):1–2.
199. Crovetto F, Figueras F, Triunfo S, Crispi F, Rodriguez-Sureda V, Dominguez C, et al. First trimester screening for early and late preeclampsia based on maternal characteristics, biophysical parameters, and angiogenic factors. *Prenat Diagn.* 2015;35(2):183–91.
200. Oancea MD, Costin N, Pop DM, Ciortea R, Mihiu D. Evaluation of serum beta-hCG and PAPP-A levels in pregnant women at risk of developing preeclampsia. *Clujul Med.* 2013;86(4):347–51.
201. Tavana Z, Hosseinmirzaei S. Comparison of Maternal Serum Magnesium Level in Preeclampsia and Normal Pregnant Women. *Iran Red Crescent Med J [Internet].* 2013;15(12):15–8.
202. Salud SM de. Programa integral de atención a la mujer de la región de murcia 2012. 2012.
203. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A MJ. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy : statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy.* 2001;20(1):9–14.
204. Er D, Dm D, DI C. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves : a nonparametric approach . 2017;44(3):1–2.
205. Ghosh G, Grewal J, Männistö T, Mendola P, Chen Z, Xie Y, et al. Racial/ethnic differences in pregnancy-related hypertensive disease in nulliparous women. *Ethn Dis [Internet].* 2014;24(3):283–9.
206. Prentice AM. The emerging epidemic of obesity in developing countries. *Int J Epidemiol* 2006;35:93–99. 2006;35:93–9.
207. Fertilidad SE de. Registro Nacional de Actividad 2014 - Registro SEF Informe estadístico de Técnicas de Reproducción Asistida. 2014.
208. Kawashima A, Koide K, Hasegawa J, Arakaki T, Takenaka S. Maternal Smoking History Enhances the Expression of Placental Growth Factor in Invasive Trophoblasts at Early

- Gestation Despite Cessation of Smoking. 2015;1–11.
209. Valenzuela FJ, Pérez-Sepúlveda A, Torres MJ, Correa P, Repetto GM, Illanes SE. Pathogenesis of Preeclampsia: The Genetic Component. *J Pregnancy* [Internet]. 2012;2012:1–8.
210. Ayaz A, Muhammad T, Hussain SA, Habib S. Neonatal Outcome In Pre-Eclamptic Patients. 2009;21(2):90–2.
211. Asunción V, Ponce Á, María R, Uría A, Ballesté I. El bajo peso al nacer y su relación con la hipertensión arterial en el embarazo The low birth weight and its relation to the high blood pressure in pregnancy. 30(1):23–31.
212. Yu CKH, Teoh TG, Robinson S, The Royal Australian and New Zealand College of Obstetricians and Gynaecologists, Spellacy W, Sewell M, et al. Risk-adjusted cesarean rates: what risk factors for cesarean delivery are important to practicing obstetricians? *BJOG* [Internet]. 2007;113(4):CD007122.
213. Dugoff L, Jc H, Fd M, Tf P, Luthy D, Ch C, et al. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications : a population-based screening study (the FASTER Trial). 2017;191(4):1–2.
214. Soto ÁL, Ángeles M, Pérez J, Izquierdo OG, Lorente M, Pérez RL, et al. Trabajos Originales Asociación de nivel bajo de PAPP-A en primer trimestre con resultados obstétricos adversos. 2016;81(4):274–80.
215. Wright D, Akolekar R, Syngelaki A, Poon LCY, Nicolaides KH. A Competing Risks Model in Early Screening for Preeclampsia. *Fetal Diagn Ther* [Internet]. 2012;32(3):171–8.
216. G MR, U GE, A RM, M MB, A AS. Documentos Preeclampsia : mediadores moleculares del daño placentario. 2012;77(1):72–8.
217. Dekker G. The partner's role in the etiology of preeclampsia. *J Reprod Immunol* [Internet]. 57(1-2):203–15.
218. Tjoa M.L, van Vugt J.M.G GATJJ. Elevated C-reactive protein levels during first trimestre of pregnancy are indicative of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *J Reprod Immunol*. 2003;59:29–37.
219. Daniela OM, Costin N, Maria PD, Ciortea R, Ioana T, Mihiu D. Evaluation of Inflammatory Markers in Pregnant Women at Risk , for the Prediction of Preeclampsia. 2014;60(January 2011):94–8.
220. Cebesoy FB, Balat O, Dikensoy E, Kalayci H, Ibar Y. CA-125 and CRP are Elevated in Preeclampsia. 2017;28(2):8–10.

221. Qiu C, Da L, Zhang C, Sw W, Wm L, Ma W. A prospective study of maternal serum C-reactive protein concentrations and risk of preeclampsia . 2017;17(2):1–2.
222. Dentali F, Gessi V, Marcucci R, Gianni M, Grandi AM, Franchini M. Lipoprotein(a) as a Risk Factor for Venous Thromboembolism: A Systematic Review and Meta-analysis of the Literature. *Semin Thromb Hemost.* 2017;1(212).
223. Chapman MJ, Ray K, Andreotti F. Revisión sobre Lipoproteína (a). *Intramed.* 2012;1–7.
225. Hedley PL, Placing S, Wøjdemann K, Carlsen AL, Shalmi A, Sundberg K, et al. Free leptin index and PAPP-A: a first trimester maternal serum screening test for pre-eclampsia. 2017;8–10.
226. Savvidou MD, Sotiriadis A, Kaihura C, Nicolaides KH, Sattar N. Circulating levels of adiponectin and leptin at 23-25 weeks of pregnancy in women with impaired placentation and in those with established fetal growth restriction. *Clin Sci (Lond).* 2008;115(7):219–24.
227. LBrandie D. Taylor Roberta B. Ness, Jorn Olsen, David M. Hougaard5 K, Skogstrand JMR and CLH. Serum leptin measured in early pregnancy is higher in women with preeclampsia compared to normotensive pregnant women. *Hypertension.* 2015;65(3):594–9.
228. Austgulen R. Umbilical cord plasma leptin is increased in preeclampsia . 2017;186(3):1–2.
229. Kalinderis M, Papanikolaou A. Serum levels of leptin and IP-10 in preeclampsia compared to controls. *Arch Gynecol Obstet [Internet]. Springer Berlin Heidelberg;* 2015;343–7.
230. Rahman S, Ahmed S. Serum Leptin Levels As a Marker for Severity of Pre-Eclampsia. *Kjms.* 2015;8(1):7–10.
231. Morse S, Borne DM. Leptin and hypertension in obesity. 2006;2(2):163–9.
232. Webber M, Krishnan A, Thomas NG, Cheung BMY. Association between serum alkaline phosphatase and C-reactive protein in the United States National Health and Nutrition Examination Survey 2005 – 2006. 2010;48(2):167–73.
233. Makuyana D, Mahomed K, Fd S, Majoko F. Liver and kidney function tests in normal and pre-eclamptic gestation--a comparison with non-gestational reference values . 2017;48:1–2.
234. Spahić E, Hasić S, Kiseljaković E, Resić H, Kulić M. Positive correlation between uric acid and C-reactive protein serum level in healthy individuals and patients with acute coronary syndrome. 2015;78–82.

-
235. Ruggiero C, Cherubini A, Ble A, Bos AJG, Dixit VD, Lauretani F, et al. Uric acid and inflammatory markers. 2009;27(10):1174–81.
236. Blancas-flores G, Almanza-pérez JC, López-roa RI, Alarcón-aguilar FJ, García-macedo R, Cruz M. La obesidad como un proceso inflamatorio. :3–12.
237. Lin C, Kardia SLR, Li C, Liu C, Lai M, Lin W, et al. The relationship of high sensitivity C-reactive protein to percent body fat mass , body mass index , waist-to-hip ratio , and waist circumference in a Taiwanese population. 2010;
238. Tanaka M, Budhathoki S, Hirata A, Morita M, Kono S, Adachi M. Behavioral and clinical correlates of serum bilirubin concentrations in Japanese men and women. 2013;
239. Lj H, Rait G, Walters K, Dm S, Sp P, Nazareth I, et al. Serum bilirubin and risk of respiratory disease and death . 2017;305(7):1–2.
240. Paúl D, Pérez T, Cohen A, Font Arreaza IJ, Bermúdez C, Schuitemaker Requena JB. Modificaciones fisiológicas del embarazo e implicaciones farmacológicas: maternas, fetales y neonatales. Rev Obs Ginecol Venez 246 Rev Obs Ginecol Venez. 2007;67(4):246–67.
241. Hastalarda P, İndeksleri E, Avcıoğlu SN, Sezer SD, Altınkaya SÖ, Küçük M, et al. Erythrocyte Indices in Patients with Preeclampsia. 2015;(Mcv):35–42.
242. Bravo C. Anemia de la inflamación / infección. 2012;
243. Saleh S, Antoniou A V, Harrington K, Aquilina J, Saleh S, Antoniou A V, et al. Second Trimester Maternal Serum Cystatin C Levels in Preeclamptic and Normotensive Pregnancies : A Small Case-Control Study Serum Cystatin C Levels in Preeclamptic and Normotensive Pregnancies : A Small Case-Control Study. 2010;1955:1525–6065.
244. Strevens, H., Wide-Swensson, D., and Grubb A. Serum cystatin C is a better marker for preeclampsia than serum creatinine or serum urate. Scand J Clin Lab Invest. 2001;61:575–80.
245. Mei-Dan E, Wiznitzer A, Sergienko R, Hallak M, Sheiner E. Prediction of preeclampsia: liver function tests during the first 20 gestational weeks. J Matern Neonatal Med [Internet]. 2013 Feb 18;26(3):250–3.
246. To G. Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop preeclampsia. 2017;1–7.
247. Hospital H. Inflammatory markers in the second trimester prior to clinical onset of preeclampsia , intrauterine growth restriction , and spontaneous preterm birth . 2017;36(4):7–8.
248. Lc C, Duckworth S, Pt S, Griffin M, Myers J, Mackillop L, et al. Diagnostic accuracy of

- placental growth factor in women with suspected preeclampsia : a prospective multicenter study . 2017;128(19):1–2.
249. Agarwal S. Is serum placental growth factor more effective as a biomarker in predicting early onset preeclampsia in early second trimester than in first trimester of pregnancy ? 2017;287(5):7–8.
250. Ocak V. Prediction of preeclampsia with maternal mid-trimester placental growth factor , activin A , fibronectin and uterine artery Doppler. 2017;89(3):7–8.
251. Carmen R, Bacărea A, Hut A, Gabor R, Dobreanu M. Placental Growth Factor , Soluble fms-Like Tyrosine Kinase 1 , Soluble Endoglin , IL-6 , and IL-16 as Biomarkers in Preeclampsia. 2016;2016.
252. Ohkuchi A, Hirashima C, Matsubara S, Takahashi K. Pregnancy / Preeclampsia Threshold of Soluble Fms-Like Tyrosine Kinase 1 / Placental Growth Factor Ratio for the Imminent Onset of Preeclampsia. 2011;
253. Ruiz AM. Biomarcadores Predictores de preeclampsia en Gestantes con Factores de Riesgo [Internet]. 2013.
254. George JN , Nester CM MJ. Syndromes of thrombotic microangiopathy associated with. Hematol Am Soc Hematol Educ Progr. 2015;2015(4):644.
255. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, Kusanovic JP, Soto E, Lam J, Dong Z, Than NG, Yeo L, Hernandez-Andrade E, Conde-Agudelo A HS. Maternal plasma concentrations of angiogenic/antiangiogenic factors in the third trimester of pregnancy to identify the patient at risk for stillbirth at or near term and severe late preeclampsia. Am J Obs Gynecol. 2013;208(287):e1–287.
256. Valino N, Giunta G, Gallo DM et al. Biophysical and biochemical markers at 30-34 weeks' gestation in the prediction of adverse perinatal outcome. Ultra- sound Obs Gynecol. 2015;47(2):194–202.
257. Agarwal V, Gupta BK, Vishnu A, Kiran J. Association of Lipid Profile and Uric Acid with Pre-eclampsia of Third Trimester in Nullipara Women. 2014;8(7):4–7.
258. Enquobahrie DA, Williams MA, Butler CL, Frederick IO, Miller RS, Luthy DA. Maternal plasma lipid concentrations in early pregnancy and risk of preeclampsia. Am J Hypertens. 2004;17(7):574–81.
259. Gurnadi JI, Mose J, Handono B, Satari MH, Anwar AD, Fauziah PN, et al. Difference of concentration of placental soluble fms - like tyrosine kinase - 1 (sFlt - 1), placental growth factor (PIGF), and sFlt - 1 / PIGF ratio in severe preeclampsia and normal pregnancy. BMC Res Notes [Internet]. BioMed Central; 2015;1–5.

-
260. Function R. The Role of Glomerular Filtration Rate in Controlling Blood Pressure Early in Diabetes Renal Function and Blood Pressure in Diabetes : Early versus Late Sodium-Retaining Influence Early in Diabetes : Role of the Renin- Angiotensin System Then Why isn ' t Blood Pressure Increased ? Role of increased GFR in Maintaining Sodium Balance. 2017;52(2):188–94.
261. Ar B, Sm M. Relationship between lipoprotein (a) levels , oxidative stress , and blood pressure levels in patients with essential hypertension . 2017;1(3):8–9.
262. Schillinger M, Mlekusch W, Haumer M, Sabeti S, Maca T, Minar E. Relation of Small Artery Compliance and Lipoprotein (A) in Patients With Atherosclerosis. 2002;980–5.
263. Llurba E, Sánchez O, Domínguez C, Soro G, Goya M, Alijotas-reig J, et al. Smoking during Pregnancy : Changes in Mid-Gestation Angiogenic Factors in Women at Risk of Developing Preeclampsia According to Uterine Artery Doppler Findings. 2013;32(1):119–29.
264. Debabrata Mukhopadhyay P, , and Ananda Basu M. Both Vascular Endothelial Growth Factor and soluble Flt-1 are increased in Type 2 Diabetes but not in Impaired Fasting Glucose. J Investig Med. 2010;58(6):804–6.
265. Cohen AL, Wenger JB, James-todd T, Lamparello BM, Halprin E, Serdy S, et al. The association of circulating angiogenic factors and HbA1c with the risk of preeclampsia in women with preexisting diabetes. 2014;33(1):81–92.
266. Wolf M, Shah A, Lam C, Martinez A, Smirnakis K V, Epstein FH, et al. Circulating levels of the antiangiogenic marker sFLT-1 are increased in first versus second pregnancies. 2005;16–22.
267. Bdolah Y, Elchalal U, Natanson-yaron S, Bdolah-abram T, Greenfield C, Milwidsky A, et al. Relationship between nulliparity and preeclampsia may be explained by altered circulating soluble fms-like. 2014;33(2):250–9.
268. Badimón L, Martínez-González J. Disfunción endotelial. Rev Española Cardiol. 2006;6(Supl.A):21–30.
269. Pita Fernández S, Pértegas-Díaz S. Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad. Cad Aten Primaria. 2003;120–4.
270. Lm A, Duley L, Dj H, La S, Group PC. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia : a meta- analysis of individual patient data . 2017;369(9575):7–8.
271. Bujold E, Roberge S, Lacasse Y, Bureau M, Audibert F, Marcoux S, et al. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. Obstet Gynecol [Internet]. 2010 Aug;116(2 Pt 1):402–14.

272. Rubio MAL y GN. Prevención de la preeclampsia con aspirina. *PROGRESOS Obstet Y Ginecol.* 2015;630.
273. This E. Hypertension in Pregnancy : The Management of Hypertensive Disorders During Pregnancy . 2017;1–2.
274. Handbook WHO, Development G. LA PREECLAMPSIA Y LA ECLAMPSIA Consecuencias y medidas. 2013;
275. Li C, Raikwar NS, Santillan MK, Santillan DA, Thomas CP. Aspirin inhibits expression of sFLT1 from human cytotrophoblasts induced by hypoxia , via cyclo-oxygenase 1. 2015;36:446–53.
276. Diepen JA Van, Vroegrijk IOCM, Berbée JFP, Shoelson SE, Johannes A. Aspirin reduces hypertriglyceridemia by lowering VLDL-triglyceride production in mice fed a high-fat diet. 2017;301(6):1–11.
277. Blachea D, Bouthillierb D. Acute influence of smoking on platelet behaviour , endothelium and plasma lipids and normalization by Aspirin. 1992;93:179–88.
278. Loss DB, Coe LM, Denison JD, Mccabe LR. Cellular Physiology and Biochemistr y Biochemistry Low Dose Aspirin Therapy Decreases Blood Glucose Levels but Does not Prevent Type I. 2011;48824(517).
279. Ogston NC, Karastergiou K, Hosseinzadeh-attar MJ, Bhome R, Madani R, Stables M, et al. Low-dose acetylsalicylic acid inhibits the secretion of interleukin-6 from white adipose tissue. 2008;1807–15.

ANEXOS

Anexo I. Resolución favorable comité ético



Arrixaca

Hospital Universitario
"Virgen de la Arrixaca"

Ctra. Valldi - Cartagena - Tel. 999 98 60 00
30. 20 El Palmer (Murcia)

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca en su reunión del día 19/12/2016, acta 12/16 ha evaluado la propuesta de los investigadores **Dr. Francisco Cañizares Hernández** y **Dra. Catalina de Paco Matallana** referida al estudio:

Título: Estudio de biomarcadores predictores de preeclampsia. Evolución de marcadores de estrés oxidativo, inflamación y angiogénesis en embarazadas en alto riesgo

Código Interno: 2016-12-8-HOUVA

1º. Considera que

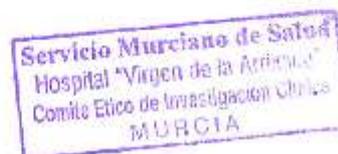
- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

Lo que firmo en Murcia, a 19 de diciembre de 2016

Fdo:

Dr. D. Antonio Piñero Madrona
Presidente del CEIC Hospital Virgen de la Arrixaca



Anexo II. Consentimiento Informado.

ASPRE Versión 3.0 14.04.2014

**Cribado y prevención de preclampsia (tensión alta en el embarazo)
Estudio aleatorizado aspirina versus placebo**

Consentimiento informado

Confirmando que he leído y entendido la hoja de información a la paciente en la hoja 1 (Versión _____ Fecha _____) para el estudio arriba reseñado y he tenido la oportunidad de preguntar mis dudas, con una respuesta satisfactoria a todas ellas

Entiendo que mi participación es voluntaria y que soy libre de dejar el estudio en cualquier momento, sin dar ninguna explicación, y sin que se altere mi normal control del embarazo o mis derechos legales.

Estoy de acuerdo en participar en el estudio de cribado de preclampsia.

Estoy de acuerdo en que se reserve mi muestra de sangre por un periodo de tiempo indefinido para futuros estudios sobre complicaciones obstétricas.

Entiendo que las partes relevantes de mi historial clínico y datos obtenidos durante el estudio, pueden ser revisados por personas autorizadas, de las autoridades reguladoras, por parte del Sponsor o por el sistema público de salud, cuando sea relevante, por el hecho de mi participación en el estudio. Doy permiso a estas partes autorizadas a acceder a mis datos. Si es necesario, doy permiso a mi médico de familia para que pueda ser contactado para la obtención de datos relacionados con complicaciones en la gestación.

Estoy de acuerdo de tener guardados mis datos de forma anónima más de 10 años

Doy permiso para informar a mi médico de familia de mi participación en el estudio.

Consentimiento informado para el estudio de cribado:

Nombre de la paciente..... Firma..... Fecha.....

Investigador..... Firma..... Fecha.....

Testigo..... Firma..... Fecha.....

Confirmando que he leído y entendido la hoja de información número 2 (Versión _____ Fecha _____) para el estudio arriba reseñado y he tenido la oportunidad de preguntar mis dudas, con la obtención de respuestas satisfactorias.

Estoy de acuerdo en participar en el estudio aleatorizado de aspirina versus placebo si soy identificada como de alto riesgo de tener preclampsia.

Entiendo que puedo ser seleccionada de forma aleatoria para un análisis de sangre, con el fin de comprobar si estoy tomando la medicación del estudio (aspirina o placebo), y estoy de acuerdo con esto.

Consentimiento para el estudio aleatorizado:

Nombre de la paciente..... Firma..... Fecha.....

Investigador..... Firma..... Fecha.....

Testigo..... Firma..... Fecha.....

**Cribado y prevención de la preeclampsia (presión arterial alta)
"Estudio de cribado"**

Le estamos invitando a participar en un estudio de investigación. Antes de decidir si quiere participar, es importante que usted entienda por qué estamos haciendo este estudio y lo que implica. Por favor, tómese su tiempo para leer la siguiente información cuidadosamente y discútirla con amigos, familiares y con su médico de cabecera si lo desea. Si tiene alguna pregunta o necesita más información, por favor póngase en contacto con los coordinadores del estudio del Hospital Clínico Universitario "Virgen de la Arrixaca", la Dra. Katy De Paco o el Dr. Juan Luis Delgado.

¿Cuál es el propósito del estudio?

La placenta es responsable de la provisión de alimentos y oxígeno al feto. Cuando hay un problema con la función de la placenta, el feto no puede crecer bien, y la madre puede desarrollar presión arterial alta (pre-eclampsia). Los problemas de placenta afectan a alrededor del 10 % de los embarazos. Las consecuencias suelen ser menores, pero en ocasiones pueden ser graves tanto para la madre como para el bebé.

El flujo de sangre a través de las arterias uterinas (vasos sanguíneos que suministran sangre a la placenta), la presión arterial y la medición en la sangre de las proteínas producidas por la placenta son importantes para determinar si usted está en mayor riesgo de desarrollar pre-eclampsia o problemas con el crecimiento del bebé.

Nuestro objetivo es tratar de identificar a las mujeres que corren un alto riesgo de desarrollar preeclampsia en el embarazo temprano. Si usted ha sido identificada como de alto riesgo de preeclampsia, se le invitará a participar en un estudio aleatorizado (ver folleto separado).

Usted puede optar por no hacerse la prueba del síndrome de Down, incluso viniendo a la consulta de cribado, pero es posible que desee formar parte de este estudio aleatorizado.

¿Por qué he sido elegida?

Todas las mujeres con un embarazo único que son asistidas en su cribado habitual para el síndrome de Down están invitadas a participar en el estudio.

¿Tengo que participar?

Depende de usted si desea o no participar en el estudio. Si usted decide participar se le dará la hoja de información y se le pedirá que firme un formulario de consentimiento. Si usted decide participar sigue siendo libre de retirarse en cualquier momento y sin dar una razón. Esto no afectará la atención que recibe.

¿Qué tengo que hacer si participo?

Durante su visita a las 11-13 semanas, vamos a medir su peso, talla y presión arterial, y evaluar el flujo de sangre al útero y la placenta durante la ecografía de rutina. Vamos a combinar los resultados de todas las pruebas junto con los resultados del análisis de sangre (que se hacen para el examen de rutina de síndrome de Down) para calcular el riesgo de pre-eclampsia.

Continuación Anexo III. Hoja informativa para pacientes.

ASPRES Versión 3.0 14.04.2014

Cribado y prevención de la preeclampsia (presión arterial alta) "Estudio de cribado"

La revisaremos de nuevo entre las semanas 20-24, y entre las semanas 30-37. Cada visita tendrá una duración de unos 40 minutos. En el momento de las ecografías, vamos a evaluar como está creciendo su bebé, mediremos el flujo de sangre hacia el útero y su presión arterial.

También le pediremos permiso para guardar una parte de su muestra de sangre y almacenarla para futuras investigación de factores que puedan estar implicados en complicaciones del embarazo.

¿Qué tengo que hacer?

No hay otras restricciones en cuanto a lo que puede o no puede hacer.

¿Qué pasa si hubiera algún problema?

Si usted tiene alguna preocupación acerca de cualquier aspecto de este estudio, debe de hablar con los investigadores que van a hacer todo lo posible para responder a sus preguntas (Dra. Katy De Paco-Dr. Juan Luis Delgado, teléfono 968 395588). Si la respuesta no es de su agrado y desea presentar una queja formal puede hacerlo en la gestoría del usuario de este hospital.

University College de Londres (el promotor del ensayo) tiene acuerdos de seguros para este estudio. En el improbable caso de que usted sea dañada por la participación en este estudio, podría solicitar una indemnización. En el caso de que algo vaya mal y se vea perjudicada durante la investigación por una negligencia de alguien, entonces es posible que tenga motivos para emprender una acción legal por daños y perjuicios contra University College de Londres , pero puede que tenga que pagar los costos legales.

¿Se guardarán mis datos confidencialmente?

Vamos a informar a su médico de cabecera de que está participando en este estudio con su permiso. Toda la información recopilada de usted durante este estudio se mantendrá estrictamente confidencial. Cualquier información que salga del hospital tendrá su nombre y dirección quitado, para que no se puede reconocer de la misma.

¿Qué pasará con los resultados de este estudio?

Una vez que el estudio se haya completado, los resultados serán publicados en una revista médica. Usted no será identificada en ningún informe o publicación. Si lo desea, será capaz de conocer los resultados del estudio y en qué grupo de tratamiento estaba cuando el ensayo haya terminado poniéndose en contacto con el coordinador del estudio.

¿Quién organiza y financia la investigación?

La financiación para llevar a cabo el estudio es proporcionada por La Comisión Europea en el séptimo programa marco. FP7 (#601852).

¿Quién ha revisado el estudio?

Todas las investigaciones en nuestro sistema de salud son estudiadas por un grupo de personas independiente, llamado comité de Ética e Investigación para proteger sus intereses. Este estudio ha sido revisado y aceptado por el comité de ética: Comité de Murcia.

El patrocinador del estudio es el Hospital University College de Londres

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Criterios de severidad en la preeclampsia	23
Figura 2. Factores de riesgo de preeclampsia	27
Figura 3. Estrés oxidativo en la Preeclampsia	31
Figura 4. Diferencias en la expresión y acción de marcadores de angiogénesis en placentas sanas vs placentas con preeclampsia	33
Figura 5. Modelo en dos etapas de la preeclampsia	35
Figura 6. Criterios diagnósticos de proteinuria en Preeclampsia	38
Figura 7. Relación entre el aumento de leptina y el crecimiento fetal restringido de la PE severa. La insuficiencia placentaria causa tanto aumento de la producción de leptina como supresión del crecimiento fetal (241).	58
Figura 8. Ácido acetil salicílico	78
Figura 9. Seguimiento y toma de muestras de las pacientes incluidas en el estudio.	80
Figura 10. Esquema de la reacción electroquimioluminiscente.	89
Figura 11. Población de estudio para el análisis de biomarcadores predictores de PE.	99
Figura 12. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores de rutina que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupo que desarrolló PE y el que no en el primer trimestre de gestación.	110
Figura 13. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores predictores de PE en el grupo que desarrolló PE y el que no en el primer trimestre de gestación.	113
Figura 14. Curva ROC para la predicción de PE de los biomarcadores en el primer trimestre de gestación	115
Figura 15. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores de rutina que presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupo que desarrolló PE y el que no en el segundo trimestre de gestación	120
Figura 16. Diagramas de cajas en el que se muestra la distribución de los marcadores predictores de PE en el grupo que desarrolló PE y el que no en el segundo trimestre de gestación.	122
Figura 17. Curva ROC para la predicción de PE de los biomarcadores en el segundo trimestre de gestación	123

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Definición de preeclampsia	20
Tabla 2. Diferencias entre la preeclampsia de inicio precoz y de inicio tardío	25
Tabla 3. Fórmulas CKD-EPI a partir de creatinina	87
Tabla 4. Fórmulas CKD-EPI 2012 cys	87
Tabla 5. Descriptivo de las características maternas de la población a estudio. Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ].	98
Tabla 6. Clasificación del IMC.....	98
Tabla 7. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población global a estudio	98
Tabla 8. Descriptivo de los datos del parto	99
Tabla 9. Comparativa de las características maternas en el grupo que desarrolló PE y el que no. <i>Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ]. Los valores p estadísticamente significativos se resaltan en negrita.</i>	100
Tabla 10. Comparativa de los resultados perinatales en el grupo que desarrolló PE y el que no. <i>Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ].</i>	101
Tabla 11. Comparativa de las características maternas en el grupo tomó AAS vs placebo. <i>Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ].</i> ..	102
Tabla 12. Comparativa de los resultados perinatales en el grupo que tomó AAS vs placebo. <i>Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ].</i> .	103
Tabla 13. Comparativa de las características maternas en el grupo que desarrolló PE de inicio precoz vs PE de inicio tardío.....	104
Tabla 14. Comparativa de las características maternas en el grupo que desarrolló PE de inicio precoz vs PE pretérmino vs a término.	105
Tabla 15. Comparativa de las características de la preeclampsia, datos del parto y neonatales en la PE de inicio precoz vs PE de inicio tardío. <i>Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ].</i>	106
16. Tabla 14. Comparativa de las características de la preeclampsia, datos del parto y neonatales en la PE pretérmino vs PE a término. <i>Los valores se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje), media \pm DE o mediana [RIQ].</i>	108
Tabla 17. Comparación de los parámetros bioquímicos y hematológicos en el grupo 1 y 2 en el primer trimestre de gestación. <i>Los resultados se expresan en media\pmDE o mediana [RIQ].</i> ...	109

Tabla 18. Comparación de los marcadores propuestos como predictores de PE en la el grupo 1 y 2 en el primer trimestre de gestación. <i>Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]</i>	111
Tabla 19. Valores del área bajo la curva (AU C), valor de <i>p</i> e intervalos de confianza de los biomarcadores para la predicción de preeclampsia en el primer trimestre.	113
Tabla 20. Comparativa AUC biomarcadores predictores de PE en el primer trimestre.	116
Tabla 21. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del primer trimestre.	117
Tabla 22. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del segundo trimestre y variables clínicas.	118
Tabla 23. Comparación de los parámetros bioquímicos y hematológicos de rutina en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el segundo trimestre de gestación. <i>Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]</i>	119
Tabla 24. Comparación de los marcadores propuestos como predictores de PE en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el segundo trimestre de gestación. <i>Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]</i>	121
Tabla 25. Valores del área bajo la curva (AUC), valor de <i>p</i> e intervalos de confianza de los biomarcadores para la predicción de preeclampsia en el segundo trimestre.....	123
Tabla 26. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y tasa de falsos positivos (TFP) de los biomarcadores para la detección de PE en el segundo trimestre de gestación.	124
Tabla 27. Comparativa AUC biomarcadores predictores de PE del segundo trimestre.....	124
Tabla 28. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del segundo trimestre.....	125
Tabla 29. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del segundo trimestre y variables clínicas.	126
Tabla 30. Comparación de los parámetros bioquímicos y hematológicos de rutina en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el segundo trimestre de gestación. <i>Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]</i>	127
Tabla 31. Comparación de los marcadores propuestos como predictores de PE en el grupo que desarrolló PE (grupo 1) y el que no (grupo 2) en el trimestre de gestación. <i>Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ]</i>	128
Tabla 32. Valores del área bajo la curva (AUC), valor de <i>p</i> e intervalos de confianza de los biomarcadores para la predicción de preeclampsia en el tercer trimestre.....	128
Tabla 33. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y tasa de falsos positivos (TFP) de los biomarcadores para la detección de PE en el tercer trimestre de gestación.	129

Tabla 34. Comparativa AUC biomarcadores predictores de PE tercer trimestre	130
Tabla 35. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del tercer trimestre.....	131
Tabla 36. Estudio de correlaciones entre los biomarcadores del tercer trimestre y variables clínicas	131
Tabla 37. distribución de los marcadores propuestos en función de los factores de riesgo de PE.	132
Tabla 38. Variables en la ecuación del Modelo 1T.....	134
Tabla 39. Test de Hosmer-Lemeshow (H-L) y estadístico c del modelos de regresión logística del 1º trimestre.....	135
Tabla 40. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del primer trimestre.	135
Tabla 41. AUC, puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del primer trimestre para el diagnóstico de PE precoz y tardía.	135
Tabla 42. AUC, puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo del primer trimestre para el diagnóstico de PE pretérmino y a término.....	136
Tabla 43. Comparación áreas bajo la curva (AUC) del modelo predictivo vs parámetros bioquímicos predictores de PE del primer trimestre.	136
Tabla 44. Diferencias de áreas al comparar el modelo predictivo de regresión logística con los biomarcadores predictores de PE del primer trimestre.	136
Tabla 45. Comparación capacidad predictiva mejor biomarcador predictivo vs Modelo predictivo 1T.....	136
Tabla 46. Variables en la ecuación del modelo 2T	137
Tabla 47. Test de Hosmer-Lemeshow (H-L) y estadístico c del modelo de regresión logística del segundo trimestre.....	138
Tabla 48. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del 2º trimestre.	138
Tabla 49. Comparación áreas bajo la curva (AUC) del modelo predictivo vs parámetros bioquímicos predictores de PE del segundo trimestre.	139
Tabla 50. Diferencia de áreas al comparar el modelo predictivo de regresión logística con los biomarcadores predictores de PE del segundo trimestre.	139
Tabla 51, Variables en la ecuación del modelo 3T	139
Tabla 52. Test de Hosmer-Lemeshow (H-L) y estadístico c del modelo de regresión logística del segundo trimestre.....	140

Tabla 53. Puntos de corte, sensibilidad, especificidad, índice de Youden, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) del modelo predictivo del 3º trimestre.	140
Tabla 54. Comparación áreas bajo la curva (AUC) del modelo predictivo vs parámetros bioquímicos predictores de PE del primer trimestre.	141
Tabla 55. Diferencia de áreas al comparar el modelo predictivo de regresión logística con los biomarcadores predictores de PE del segundo trimestre.	141
Tabla 56. Comparación de los biomarcadores en el primer trimestre en la el grupo tratado con aspirina vs placebo. <i>Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ].</i>	144
Tabla 57. Comparación de los biomarcadores en el primer trimestre en la el grupo tratado con aspirina vs placebo. <i>Los resultados se expresan en media±DE o mediana [RIQ].</i>	145

